Aus dem Hygienischen Institut der Universität Rostock
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. L. Pfeiffer)

Diphtheriebacillen beim Geflügel

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Rudolf Spiegelberg
approbierter Arzt

Jena
Gustav Fischer
1914

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Rostock
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. L. Pfeiffer)

Diphtheriebacillen beim Geflügel

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Rudolf Spiegelberg
approbierter Arzt

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Jena
Gustav Fischer
1914

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Rostock.

Referent: Herr Prof. Dr. Pfeiffer.

Teilweiser Sonderabdruck aus dem
Centralblatt f. Bakteriologie. I. Abt. Originale. Bd. 75.

Meinen Eltern gewidmet

Inhalt.

I. Historische Uebersicht 7
II. Kulturelle Untersuchungen 12
1. Diphtheriebacillen kranken Geflügels 12
2. Diphtheriebacillen gesunder Tauben 20
III. Impfversuche mit Tauben 25
IV. Agglutinationen 27
1. Kaninchensera und Diphtheriebacillen von Menschen und krankem Geflügel 31
2. Kaninchensera und Diphtheriebacillen von gesunden Tauben 34
3. Taubensera und Diphtheriebacillen 36
V. Ergebnisse 37

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553613_0122

I. Teil.

Historische Uebersicht.

Die Frage nach der Aetiologie der Geflügeldiphtherie und besonders nach ihren Beziehungen zur Menschendiphtherie hat schon lange zu zahlreichen Beobachtungen und Untersuchungen Anlaß gegeben; bei diesen ist von Anfang an die große Differenz der Ansichten in die Augen fallend.

Die ersten Forscher, die in den sechziger und siebziger Jahren des vorigen Jahrhunderts, vornehmlich in Italien und Frankreich, bald auch in Deutschland, dem Wesen der Geflügeldiphtherie nachgingen, stellten meist Protozoen, und zwar Flagellaten, Coccidien und Gregarinen als ihre Erreger hin. Diese Untersuchungen wurden in der bakteriologischen Aera bald größtenteils als irrig und verschiedene der für nosogen erklärten Mikroorganismen als harmlose Schmarotzer erkannt. Dafür wurde nunmehr den verschiedensten Bakterien die Erzeugung von Geflügeldiphtherien zugeschrieben. Auf die diesbezüglichen Arbeiten, die sich auf eingehende bakteriologische Untersuchungen und Impfungen mit Reinkulturen stützen, soll zunächst kurz eingegangen werden.

1. Als erster beschrieb Loeffler (15) 1884 als Erreger der Taubendiphtherie ein Coli-ähnliches Stäbchen. Ein Schlag von ca. 20 Tauben war einer Diphtherieepidemie bis auf ein letztes Tier erlegen, welches Loeffler allein moribund erhielt und bei dem er in den Exsudatmassen besonders reichlich, sowie in der Leber ausschließlich das untersuchte Stäbchen fand. Es war nach seinen Angaben nicht beweglich, „wenig länger und etwas schmaler wie die Bacillen der Kaninchenseptikämie, an dem Ende abgerundet und meist in Haufen“ angeordnet; das Wachstum auf Blutserum und auf Gelatine, die nicht verflüssigt wurde, bot nichts Besonderes; auf Kartoffel fand nur sehr spärliches Wachstum statt. Die Impfung auf Tauben erzeugte ausgedehnte Pseudomembranen, bei 2 Hühnern entstanden allerdings nur bis linsengroße weiße Fleckchen.

Zuerst bestätigten Babes und Puscariu (1) 1889 Loefflers Befunde bei einer Bukarester Taubenepidemie. Sie isolierten bei sechs kranken Tauben aus Pseudomembranen und inneren Organen das von Loeffler gefundene Stäbchen, das sich als gramnegativ erwies. Impfungen erzeugten bei Tauben den gleichen septikämischen Infekt, bei Hühnern nur lokale Pseudomembranen.

Schließlich fand auch Ritter (27) 1895 bei der Untersuchung von insgesamt 106 Tieren aus 3 Tauben- und 4 Hühnerdiphtherieepidemien „schmale Stäbchen mit abgerundeten Ecken, welche den von Loeffler beschriebenen entsprechen dürften“. Allerdings erklärt Ritter die Bakterien im Gegensatz zu Babes und Puscariu für grampositiv.

Sie fanden sich in allen Organen der spontan und der künstlich mit Reinkulturen infizierten Tiere, auch hier also ein septikämischer Krankheitsverlauf schwerster Art. [Den milzbrandähnlichen Kälberdiphtheriebacillus Loefflers fand Ritter freilich bei 7 Kälbern, aber nicht beim Geflügel; die Angabe in den Referaten im Centralblatt für Bakteriologie u. Parasit. 1896 und in den Zitaten bei Hausser (9) und Müller (20) ist irrig.]

2. 1893 isolierten Loir et Ducloux (16) bei einer Diphtherieepidemie, die in Tunis Hühner, Tauben u. a. kleinere Vögel befiel, aus allen Exsudaten und Sekreten ein koliähnliches, bewegliches, gramnegatives Stäbchen, das auf den gewöhnlichen Nährböden gut wuchs, Gelatine nicht verflüssigte. Bei 25 mit Reinkulturen geimpften Hühnern und 3 Tauben erzielten sie stets Pseudomembranen; 10 Hühner genasen allmählich, alle anderen Tiere erlagen dem gleichen, septikämischen Krankheitsverlaufe. Interessant ist ferner, daß es Loir et Ducloux bei einem Falle menschlicher Angina auf einem Gehöfte mit Geflügeldiphtherie gelang, ihren Vogelbacillus fast in Reinkultur anzutreffen und bei einem Huhne damit die typische Infektion zu erzeugen.

3. Ein ähnliches, nur weniger stürmisches Krankheitsbild fand Guérin (6 u. 7) 1901 und 1903 erzeugt durch unbewegliche (nur oszillierende), gramnegative Coccobacillen, die auf den Nährmedien nur schwach, auf Kartoffel überhaupt nicht wuchsen, Gelatine nicht verflüssigten und Milch nicht veränderten. Von allen Vögeln erwiesen sich die Tauben am empfindlichsten; doch auch bei diesen gelang es ihm erst nach mehrfach wiederholter Tierpassage, mit seinen Reinkulturen Pseudomembranen und septikämischen Tod der Impftiere zu erzeugen.

4. Streit (31) züchtete 1904 in Amerika bei ca. 60 an Diphtherie (dort „Roup“ genannt) erkrankten Hühnern zwei pathogene Bakterienarten:

a) Bei den meisten fand er in den Membranen, nie im Blut oder den inneren Organen, ein kleines, plumpes, lebhaft bewegliches, gramnegatives Stäbchen, das auf den üblichen Nährböden gut wuchs und Gelatine verflüssigte. Anfangs schwach pathogen, ließ sich seine Virulenz durch zweimalige Taubenpassage so weit erhöhen, daß 9 Hühner nach der Impfung schwer in typischer Weise erkrankten, 2 davon starben.

b) Bei 4 Hühnern isolierte er aus dem Exsudat, sowie zum Teil auch aus Blut, Leber und Milz den Bacillus pyocyaneus, und auch mit diesem konnte er bei 2 Hühnern Pseudomembranen erzeugen.

5. Müller (20) fand 1905 bei 6 Hühnern in den Belägen, nicht in Blut und Organen, ein sehr kleines, unbewegliches, grampositives Stäbchen, das Gelatine verflüssigte, Loeffler-Serum erweichte, Milch gerinnen ließ und sich besonders durch starke Hofbildung auf Blutagar auszeichnete. Die Impfung mißlang allerdings bei 3 Hühnern und 3 Tauben; nur bei 1 Taube gelang die Erzeugung von Belägen am Gaumen, 2mal hintereinander. Darum zieht Hausser (9) die Pathogenität des Müllerschen Stäbchens überhaupt in Zweifel, zumal er selbst diese Stäbchen zwar auch bei kranken Hühnern fand, aber 2mal je 2 Hühner erfolglos damit impfte und auch mit einer von Müller übersandten Reinkultur bei der Impfung auf 2 Hühner und 2 Tauben nur leichte katarrhalische Erscheinungen erzielen konnte.

6. Hausser (9) fand bei 52 an Diphtherie zugrunde gegangenen Hühnern konstant in den Belägen, nicht in den Organen, ein von ihm

für den Haupterreger der Geflügeldiphtherie angesehenes Coli-ähnliches, bewegliches, gramnegatives Stäbchen, das auf gewöhnlichen Nährböden gut wuchs, Gelatine nicht verflüssigte. Die Impfung ergab bei 2 Hühnern typische lokalisierte Beläge. Außerdem fand er bei der systematischen Plattenuntersuchung der Beläge vereinzelt, aber nicht regelmäßig unter anderem Streits „Roupbacillus", Streptokokken und den Bacillus pyocyaneus, und mit jedem ergaben die Impfungen manchmal mehr oder minder ausgeprägte, gelbe lokale Beläge, manchmal freilich auch nur eiterige Katarrhe und Krusten.

In diesem Zusammenhange sei bemerkt, daß es auch Harrison (8) gelang, mit dem Pyocyaneus bei Hühnern Pseudomembranen zu erzeugen.

Besonders bei den Haussersehen Impfversuchen, die breitbasig angelegt sind, aber auch aus der ganzen Reihe der angeführten Arbeiten erhellt klar, daß die verschiedensten Mikroorganismen diphtheritische Prozesse beim Geflügel erzeugen können. Dabei gruppieren sich die Krankheitsformen leicht in zwei Kategorien, je nachdem sie einen septikämischen oder einen lokalen Verlauf nehmen. Zu den Erregern der ersten Gruppe gehören der Loefflersche Taubendiphtheriebacillus, die Organismen von Loir et Ducloux und von Guérin, der Pyocyaneus und der Streptococcus; zu denen der zweiten Gruppe Streits Roupbacillus, Müllers fragliches Stäbchen, sowie Haussers in seiner Pathogenität gut begründeter Bacillus.

Im Gegensatz zu den Meinungsdifferenzen über die Aetiologie sind sich die Forscher innerhalb der beiden Gruppen über das klinische Krankheitsbild im allgemeinen einig:

Im Vordergrunde steht die Affektion des Rachens und der Mundhöhle: Hier ist die Schleimhaut mehr oder minder mit halbflüssigen, käsigen Exsudatmassen oder festeren fibrinös-diphtherischen Membranen bedeckt. Oft dehnt sich der Prozeß auf den Kropf, auch auf die Nase und ihre Nebenhöhlen aus, von denen nach Hausser sogar der ganze Verlauf seinen Ausgang nehmen soll. Der Kehlkopf selbst wird im Gegensatz zur menschlichen Diphtherie fast immer frei von Belägen gefunden; wohl aber können sich in der Trachea und den Bronchien schwerere diphtherische Veränderungen und in den Lungen Eiterherde finden. Die Conjunctiven sind bei den Tauben selten beteiligt, bei den Hühnern aber oft, und zwar so schwer betroffen, daß schließlich die ganze Orbita von käsigen Pfröpfen erfüllt und der Bulbus phthisisch entartet ist. Die Allgemeinaffektion bei dem septikämischen Typ äußert sich, abgesehen von dem anatomischen Befunde in den inneren Organen, klinisch in heftigem Durchfall, der den oft recht schweren diphtherischen Darmprozessen zuzuschreiben ist; die Exkremente sind dementsprechend bei dieser Form sehr infektiös.

Naturgemäß drängt sich die Frage auf, ob nicht auch der Erreger der Menschendiphtherie beim Geflügel zu ähnlichen lokalen Krankheitsprozessen Anlaß geben könne. In der Tat hat diese Frage schon früher das Interesse zahlreicher Untersucher auf sich gelenkt. Besonders in den 80er Jahren hatten sich geradezu zwei Parteien gebildet, die sich lebhaft befehdeten und über eine ganze Anzahl von Fällen berichteten.

Nach den Unitaristen sollte die Uebertragung der Geflügeldiphtherie auf den Menschen und umgekehrt die Infektion von Hühnern durch diphtheriekranke Menschen mehrfach vorgekommen und durch Mem-

branen auch experimentell erzeugt worden sein. Die Dualisten andererseits fanden niemals eine wechselseitige Infektion gesunder Menschen durch krankes Geflügel oder umgekehrt trotz engsten Zusammenseins beider und bestritten, daß es sich bei den Fällen der Unitaristen um echte Diphtherie gehandelt habe.

Es lohnt sich indessen nicht, auf diese kasuistischen Arbeiten im einzelnen einzugehen[1]), da es sich bei allen nur um rein klinische Beobachtungen oder vereinzelte Experimente ohne bakteriologische Untersuchungen gehandelt hat. Daher ist es, ganz abgesehen von dem meist recht unsicheren und zufälligen Infektionsmodus, einerseits bei den menschlichen Erkrankungen meist gar nicht sichergestellt, ob es sich um Fälle echter Diphtherie oder um pseudomembranöse Erkrankungen anderer Aetiologie gehandelt hatte; andererseits kommt ja auch für den Sammelbegriff der Geflügeldiphtheritis eine Mehrheit von Erregern in Betracht, von denen einige unter Umständen auch für den Menschen pathogen sein können. Jene nicht bakteriologischen Untersuchungen können also weder für noch gegen die Bedeutung des Loefflerschen Bacillus beim Geflügel beweisend sein. Daher wurde es, als nun die oben angeführten Arbeiten gewichtig in die Wage der Dualisten fielen, auf der Seite der Unitaristen immer stiller und stiller, so daß die früher lebhafte Diskussion einschlief und die Frage im Sinne der Dualisten entschieden zu sein schien.

Nun haben ja allerdings mehrere Autoren, die ihr Augenmerk auch gerade auf den Loeffler-Bacillus[2]) gerichtet hatten, diesen bei diphtheriekrankem Geflügel niemals finden können. So z. B. Ritter (27) 1895 nicht bei 106 verendeten Hühnern und Tauben, ferner Harrison (8) 1903 niemals bei ca. 300 kranken Hühnern und Tauben; Guérin (6) berichtet 1903, bei 70 bakteriologischen Untersuchungen von Vögelpseudomembranen nur 2mal einen avirulenten Loeffler-Bacillus beobachtet zu haben. Endlich gelang es auch Hausser (9) 1909 bei keinem seiner 52 systematisch untersuchten Hühner den Erreger der Menschendiphtherie festzustellen.

Jedoch diese Beobachtungen können eben nur für die Mehrheit von Ursachen der Geflügeldiphtherie sprechen; auch sie widerlegen nicht für alle Fälle die Theorie, daß unter anderem der Menschendiphtheriebacillus für das Geflügel pathogen sein kann.

So ist denn andererseits von einzelnen Beobachtern der Loeffler-Bacillus bei Vögeln in der Tat konstatiert worden:

Auf gesunden Vogelschleimhäuten zunächst konnten ihn Macfadyen and Hewlett (18) in zahlreichen Fällen, sowie auch Sharp (29) und Harrison (8) antreffen. Ferner fand Müller (20) bei je 6 gesunden Hühnern und Tauben Bacillen, die er der Diphtheriegruppe zurechnet. Das Vorkommen von gesunden Bacillenträgern aber spricht durchaus nicht gegen die Infektiosität der betreffenden Parasiten.

Auch bei diphtheriekrankem Geflügel ist nun der Loeffler-Bacillus gefunden worden:

Wenig stichhaltig sind allerdings noch Angaben wie die von Krajewski (11), der 1888 in Ausstrichen von Pseudomembranen ein

1) Eine gute kritische Uebersicht hat Galli-Valério (5) gegeben.

2) Es sei bemerkt, daß im folgenden unter „Loeffler-Bacillus“ schlechthin stets der Erreger der Menschendiphtherie verstanden werden wird, während Loefflers Taubendiphtheriebacillus als solcher ausdrücklich bezeichnet wird.

dem menschlichen Diphtheriebacillus sehr ähnliches pathogenes Stäbchen fand, dessen Identität mit jenem er selbst sogar unentschieden läßt.

Auch Emmerichs (3) kurze Angabe 1884 vor dem Kongreß in Haye, daß er „durch Impfung, Kultur- und mikroskopische Beobachtung" die „vollkommene Identität zwischen der Tauben- und Menschendiphtherie" festgestellt habe, hat schwache Beweiskraft.

Das Gleiche gilt von einer Bemerkung Galli-Valérios (5), der 1897 in einem Falle von Geflügeldiphtherie ein „dem Loefflerschen morphologisch sehr ähnliches" Stäbchen fand.

Mehr Interesse verdient die Arbeit von Gallez (4) 1896; nach ihm wird der „Catarrhe contagieux" oder „Rotz" des Geflügels, der von der Geflügeldiphtherie prinzipiell zu unterscheiden sei, von einem Loeffler-Bacillus mit herabgesetzter Virulenz erzeugt.

Ungefähr gleichzeitig fand Sharp (29) bei mehreren Hühnerdiphtherieepidemien ein Stäbchen, das „nach den sorgfältigen Untersuchungen nicht vom Klebs-Loefflerschen Bacillus unterschieden werden konnte".

Macfadyen and Hewlett (18) fanden 1899 auch bei zahlreichen diphtheriekranken Vögeln (sowie später bei vielen gesunden) einen Mikroorganismus, der dem Loeffler-Bacillus „in seinen morphologischen, kulturellen und färberischen Eigentümlichkeiten glich, ... nur nicht in seinen pathogenen und toxischen Eigenschaften".

1902 fand Maxutow (19) einen Bacillus der Geflügeldiphtherie mit ausgesprochener Neisser-Färbung.

1903 berichteten Kampmann, Hirschbruch und Lange (10) über eine eiterige nekrotisierende Conjunctivitis und Keratitis bei Enten, bei der augenscheinlich der Loeffler-Bacillus eine Rolle spielte. Es erkrankten ca. 100 Enten und starben zu ca. einem Viertel. Aus dem Sekret von 2 kranken Tieren, die sie allein zur Untersuchung bekamen, züchteten Kampmann, Hirschbruch und Lange u. a. 2 farbstoffbildende, sonst typische Pseudodiphtheriestämme und einen dritten Stamm, den Kampmann, Hirschbruch und Lange zwar auch für einen Pseudodiphtheriebacillus erklärten, der aber nach ihrer Schilderung offenbar den echten Diphtheriebacillen zuzurechnen ist. Es handelte sich um ein ziemlich großes Stäbchen mit ausgeprägter Keulenbildung, typischer Lagerung, deutlicher Segmentierung und so guter Polkörperbildung, daß es „auf 23-stündigen Kulturen fast schwer ist, einen Bacillus ohne Polkörperchen zu finden". Auch das Wachstum auf festen und flüssigen Nährböden war ganz wie bei echter Diphtherie. Der einzige Grund, warum Kampmann, Hirschbruch und Lange ihn zu den Pseudodiphtheriebacillen stellen wollen, ist seine Länge, die $1^1/_2$—2mal so groß war wie die des echten Diphtheriebacillus. Jedoch liegt dies nicht außerhalb der normalen Größenschwankung des Loefflerschen Stäbchens. Diesen selben Bacillus fanden Kampmann, Hirschbruch und Lange schließlich auch bei 2 von 10 untersuchten gesunden Enten.

1907 züchtete Piorkowski (24) aus einem diphtheriekranken Huhne Bakterien, die „morphologisch und kulturell sich vollkommen analog" dem Loeffler-Bacillus erwiesen und von deren Bouillonkultur je 0,03 ccm Meerschweinchen in 2 Tagen töteten.

Endlich konnten 1911 Rappin et Vanney (26) bei einer Geflügeldiphtherieepidemie, der mehrere Hunderte erlagen, in fast allen Fällen auf Grund „vollständiger bakteriologischer Untersuchungen" (Näheres

wird leider nicht dargelegt) den Loeffler-Bacillus feststellen. Die einzige Besonderheit war eine geringere Meerschweinchenvirulenz, da nur junge Tiere der Impfung erlagen, während erwachsene Meerschweinchen resistent waren. Doch ist dieser Umstand in Anbetracht der Virulenzverschiedenheiten der echten Diphtheriebacillen wohl nicht hinreichend, um, wie Neisser und Gins (21) es tun, die Echtheit dieses Diphtheriebacillus in Zweifel zu ziehen.

Somit sind die Stützen, die die Lehre von der Identität der menschlichen Diphtherie mit der Geflügeldiphtherie oder wenigstens mit einer Form derselben in früheren Arbeiten findet, nicht zahlreich und zum Teil recht schwach gegenüber der Menge der Angreifer. Ja, Müller (20, p. 424) konnte 1905 sogar sagen: „Je exakter im Laufe der Jahre sich die bakteriologische Diphtheriediagnose gestaltet hat, um so mehr verlor die Identitätslehre an Boden, und heute dürfte es kaum noch einen kompetenten Vertreter derselben geben", und Hausser (9, p. 540) glaubt 1909 „beweisen" zu können, daß keine Geflügeldiphtherieart durch den Loeffler-Bacillus bedingt sei.

Das letztere ist nun aber entschieden abzuwehren. Daß die Geflügeldiphtheritis keine ätiologische Einheit, sondern ein pathologisch-anatomischer Sammelbegriff verschieden bedingter Krankheitsprozesse ist, ist sichergestellt, und wenn man wohl sogar zugeben muß, daß die Mehrzahl der Formen durch andere Mikroorganismen erzeugt wird, so ist es doch nicht für alle Fälle ausgeschlossen, daß der Loeffler-Bacillus einmal eine echte Geflügeldiphtherie erregen kann. Die größte praktische Bedeutung für den Hygieniker hat nun sicherlich gerade das Vorkommen solcher. Darum erscheint es nicht unbegründet, über 3 Fälle von Geflügeldiphtherie zu berichten, bei denen wenigstens in zweien der Loeffler-Bacillus konstatiert worden ist. Im Anschluß daran soll dann auch über das Vorkommen derselben Bacillen bei gesunden Tauben berichtet werden.

II. Teil.

Bakteriologische Untersuchungen.

1. Diphtheriebacillen kranken Geflügels.

Am 15. Juni 1913 wurde dem Hygienischen Institut zu Rostock eine kranke Taube überbracht, die besonders an starker Atemnot litt und am nächsten Tage starb. Bei der Sektion fand sich ein graugelber, zäher, membranöser Belag im Nasenrachenraum ausgebreitet, Kehlkopf und Trachea frei, aber in den Lungen ein Abszeß mit klarem flüssigen Inhalte und Eiterflocken darin. In einer Loeffler-Kultur, die von dem Rachenabstrich dieses Tieres angelegt wurde, fanden sich nun bei der Neisser-Färbung Bacillen, die von den typischen Loeffler-Bacillen nicht zu unterscheiden waren; in der Kultur von dem Abstriche aus dem Lungenabszeß konnten sie nicht gefunden werden. Im folgenden ist der von dieser Taube erhaltene Bacillenstamm mit T 1 bezeichnet.

Infolge dieses auffallenden Befundes wurde in der Folgezeit bei eingeliefertem kranken Geflügel stets das Augenmerk auf Stäbchen mit Polkörpern gerichtet. In der Tat fanden sie sich gleich bei der nächsten Taube, die ein anderer Geflügelzüchter am 8. August brachte, da sie auch an Atemnot litt. Sie wurde sogleich mit Leuchtgas getötet. Bei

der Sektion ergaben sich hier nur ein kleinerer diphtherischer Belag auf der Zunge, bronchopneumonische Knötchen in der Lunge, sowie eine entzündliche Hyperämie und Schwellung des Darmes, aber keine Geschwüre. Die in Frage kommenden Bacillen, im folgenden als Stamm T 2 geführt, fanden sich nur in dem Rachen.

Endlich wurde am 18. Sept. 1913 ein Hühnerkopf von einem Schlächter eingeliefert, dem noch mehr Hühner erkrankt und zum Teil gestorben waren. (Bei den ersten beiden Bacillenstämmen ließ sich leider nicht mehr ermitteln, ob noch mehrere Tauben derselben Völker erkrankt und eingegangen waren.) Die Innenseite der rechten Wange des Hühnerkopfes war geschwürig zerfallen und mit gelblichen, trockenen, bröckeligen Eitermassen bedeckt. Die Augen waren gesund. Im Abstriche zeigten sich neben Kokken und anderen Stäbchen auch Bacillen (H 1) mit zahlreichen Polkörnern.

Um den Nachweis der Verwandtschaft dieser Stäbchen mit menschlichen Diphtheriebacillen zu führen, wurden gleichzeitig mit ihnen 2 Menschendiphtheriestämme auf ihr kulturelles Verhalten hin untersucht. Beide („M 1“ und „M 2“) stammten von Bacillenträgern.

Morphologie und allgemeines Verhalten.

T 1: Es waren kleine bis mittelgroße schlanke Stäbchen, mit Methylenblau gut färbbar, deutlich segmentiert, vereinzelte leicht bogenförmig gekrümmt, bei Neisser-Färbung auf 1-tägiger Loeffler-Kultur fast sämtlich mit Polkörperchen versehen, oft in Palisadenform und gekreuzt angeordnet, manchmal auch aneinandergereiht. Im Gram-Präparat behielten sie den Farbstoff, nur einzelne, wohl abgestorbene, schlecht ausgebildete und teils zerfallene Stäbchen entfärbten sich. Im hängenden Tropfen waren sie unbeweglich und verklumpten stellenweise spontan. Während der 3-monatigen Kultivierung auf Nährböden behielten sie ihre Lebenskraft ziemlich unverändert bei, nahmen nur ein wenig an Größe sowohl des Bacillenleibes wie der Polkörper zu.

T 2: Dies waren anfangs auffallend große Stäbchen, manche fast doppelt so groß wie normale Diphtheriebacillen, mit ausgesprochener Segmentierung, so daß einzelne im Methylenblaupräparat Streptokokken glichen. Auch hier fand sich eine starke Polkörperbildung bei sämtlichen Stäbchen ohne Ausnahme, einzelne Bakterien zeigten Flaschen- und Keulenform mit sehr großen, geradezu klobigen Polkörpern. Die Anordnung war genau so wie bei T 1. Vielleicht ist die Größe und exzessive Polkörperbildung ein Zeichen von beginnender Entartung; denn nachdem der Stamm etwa einen Monat lang gut gewachsen war, verlor er ziemlich plötzlich, als er 1—2 Wochen nicht frisch übertragen worden war, vollkommen seine Lebenskraft und stellte sein Wachstum ganz ein. Auch von dem ursprünglichen 1. Loeffler-Röhrchen, das im Dunkeln aufbewahrt worden, jedoch etwas eingetrocknet war, gelang es kaum, neue Kulturen zu züchten. Erst ganz allmählich ließ sich durch tägliches Uebertragen auf neues Loeffler-Serum das Wachstum des Stammes wieder bessern. Aber auch dann bildete er nie wieder solche prächtigen Formen wie ursprünglich, sondern behielt die Gestalt kurzer, plumper, Coli-ähnlicher Stäbchen mit nur sehr spärlich entwickelten Polkörpern. Daß etwa eine zweite, symbiotische Bakterienart in der Stammkultur die früheren Diphtheriebacillen unterdrückt haben sollte, ist ausgeschlossen. Kulturell verhielten die schlecht ausgebildeten Stäbchen sich genau so wie ihre stattlicheren Vorfahren, und allmählich

traten doch wieder einzelne typische Bacillen mit deutlichen Polkörperchen auf; auch behielten sie ihre Antigeneigentümlichkeit sehr gut bei, wie ich im folgenden noch zeigen werde.

H 1: Mittelgroße Diphtheriebacillen, gut segmentiert und mit so ausgesprochener Polkörperbildung, daß es schwer fiel, ein Stäbchen ohne solche im Neisser-Präparat zu entdecken. Pallisadenförmige und gekreuzte Lagerung fand sich häufig; auch sie waren unbeweglich und grampositiv. Hier war die Zeitdauer der Beobachtung (7 Wochen) wohl zu kurz für die Ausbildung von Entartungserscheinungen.

M 1: Kleine bis mittelgroße Diphtheriebacillen mit typischer Segmentierung, Polkörperbildung und Gruppierung, unbeweglich und grampositiv. Nachdem dieser Stamm alle seine Eigenschaften fast 3 Monate unverändert gut beibehalten hatte, fing er schließlich auch an, spärlichere Polkörperchen auszubilden.

M 2: Kleine Bacillen, die sich anfangs vollkommen wie M 1 verhielten. Ihre Wachstumskraft auf den Nährböden behielten sie unverändert bei; aber morphologisch entarteten sie in 2 Monaten allmählich zu kurzen, plumpen, fast kokkenähnlichen Stäbchen mit nur noch sehr spärlichen und dürftigen Polkörperchen, die schließlich ganz verschwanden.

Dies Verhalten, das bei längerer Nährbodenzüchtung von Diphtheriebacillen auch andererseits häufig beobachtet worden ist, verdient besondere Beachtung in Anbetracht der Stellung der Pseudodiphtheriebacillen. T 2 sowie auch M 2 würden in ihren späteren Formen unbedingt für Pseudodiphtheriebacillen erklärt worden sein, stammten aber doch von durchaus typischen Diphtheriebacillen ab und wurden sehr gut agglutiniert (s. u.). Bei den späteren T-Stämmen fand sich mehrfach ein ähnliches Verhalten (s. u.). Vielleicht ist überhaupt die Armut bzw. der Mangel der sogenannten Pseudodiphtheriebacillen an Polkörperchen nur eine Entartungserscheinung ursprünglich echter Diphtheriebacillen, so wie das gleiche wohl auch von dem anderen Charakteristikum der Pseudodiphtherie, nämlich der Virulenzverminderung, gilt.

Plattenkulturen.

Auf Platten verhielten sich alle 5 Stämme in so weitgehendem Maße übereinstimmend, daß es angebracht erscheint, zunächst das Verhalten aller gemeinsam zu schildern und dann die geringen Differenzen der einzelnen Arten darzulegen.

Agarplatten.

Zunächst entstanden zahlreiche punktförmige bis stecknadelkopfgroße, weißliche Kolonieen in allen Tiefen, von denen einige, näher oder ganz an der Oberfläche liegende, von einem ganz feinen, schleierartigen Hofe umringt waren. Bei 60-facher Vergrößerung erkannte man gelbbräunliche, fein gekörnte, scharfrandige, runde bis rundliche, ovale bis wetzsteinförmige Kolonieen. Die behöften zeigten einen dunkleren, gut abgegrenzten Kern, der kleiner als die strukturlosen Kolonieen war, und darum einen hellen, deutlich gekörnten, meist runden, feinzackig begrenzten Hof; nur bei einigen gingen manchmal auf der Oberfläche größere zackige Ausläufer weiter in die Umgebung. Die erste Verdünnung blieb annähernd auf dieser Entwicklungsstufe stehen.

In der zweiten Verdünnung wuchsen die Kolonieen bei fortgesetzter Bebrütung besonders an der Oberfläche noch stark aus und wurden mehr gelblich-bräunlich. Die Form blieb rund bis rundlich; nur ganz ver-

einzelte größere Kolonieen wiesen bei homogenem Inneren einen guirlandenförmigen Rand mit plumpen Ausbuchtungen auf, wohl infolge ganz früher Konfluenz aus mehreren Keimen. Die Oberfläche wies bei allen einen spiegelnden Glanz auf, der erst bei beginnender Austrocknung matter wurde. Die kleineren Kolonieen sprangen kugelig über das Niveau hervor, am Rande oft von einer kleinen Furche umgeben, und ließen sich beim Klatschpräparat als Ganzes herausheben; die größeren stellten ein relativ niedrigeres Plateau dar; bei vielen erhob sich die Mitte als flachkugelig abgesetzter Knopf über die ebenen Randpartieen.

Bereits makroskopisch ließen die meisten größeren Kolonieen einen dunkleren bräunlichen Kern in der helleren Scheibe erkennen. Unter dem Mikroskope erschien dieser Kern oft undeutlich abgesetzt, da die Kolonieen von den hellbraunen, deutlich gekörnten, feinstzackig begrenzten Randpartieen zur Mitte hin an Dichte und Farbe zunahmen. Einige wenige blieben annähernd homogen bräunlich und ganz strukturlos, bis auf die periphere Aufhellung. Die meisten wiesen aber nach 2—3 Tagen zahlreiche rundliche, gekörnte, bräunliche Schollen auf, die um den Kern am größten und dichtesten gelagert waren, nach außen hin kleiner und zahlreicher wurden und die Randpartieen freiließen. Die ganz in der Tiefe liegenden, kleinen, allmählich dunkler bräunlich werdenden Kolonieen glichen denen in Verdünnung 1. Nur einige waren nicht so homogen, sondern mit zahlreichen dichtgedrängten Schollen wie vollgestopft, die stellenweise über den Rand hinaussprangen und dessen sonst unversehrte Rundung unterbrachen.

Endlich fanden sich auch mannigfache Uebergänge: noch ganz kleine, sowie schon recht stattliche Kolonieen, bei denen der sonst glatte Rand an $^1/_4$ bis $^1/_3$ seiner Peripherie von herausquellenden Bakterienmassen durchbrochen war; diese breiteten sich dann als hellerer Hof mit feingezacktem Rande aus und umflossen den erhalten gebliebenen, als scharfe dunkle Linie erkennbaren, an der Durchbruchsstelle beiderseits plötzlich aufhörenden Rand des braunen Kernes mehr und mehr; endlich schloß sich der Hof und es blieb nur noch eine Einkerbung an der Schlußstelle und eine dunklere Nahtlinie, die sich an der Oberfläche als Furche erwies. Oft sah man auch von einer halbkreis- bis nierenförmig gestalteten, an der Oberfläche sich ausbreitenden Scheibe von ihrem Hilus aus einen dunklen Zapfen seitlich in die Tiefe vorspringen.

Mikroskopisch fanden sich die ursprünglichen Stäbchen ziemlich unverändert, nur ein wenig schwächer ausgebildet als auf Loeffler-Serum und nicht so durchweg mit Polkörperchen versehen.

Von Differenzen der einzelnen Arten ist nur wenig zu bemerken

T 1 diente als Muster der Beschreibung.

T 2 wies eine etwas gröbere Körnelung als die anderen Stämme auf.

H 1 entsprach T 1.

M 1 bildete im ersten Gusse keine Schollen, im zweiten dann aber genau so wie T 1. Stets blieb dieser Stamm etwas heller bräunlich als die anderen, analog seinem Verhalten auf den sonstigen Nährböden (s. u.).

M 2 entwickelte zuerst auch keine Schollen und dann in etwas anderer Gruppierung: Die zentralen Schollen waren ebenso groß und dicht gelagert; peripherwärts wurden sie zwar auch kleiner, aber spärlicher.

Gelatineplatten.

Auf Gelatineplatten bei Zimmertemperatur wuchsen alle Stämme sehr spärlich und wenig prägnant. Erst nach mehreren Tagen traten

zahlreiche punktartige bis stecknadelkopfgroße, grauweißliche Kolonieen auf, die langsam vereinzelt bis allerhöchstens zu Hirsekorngröße anwuchsen. Die Oberfläche zeigte einen wegen der Kleinheit kaum erkennbaren schwachen Glanz, der beim Wachstume infolge des gleichzeitig erfolgenden oberflächlichen Eintrocknens matter wurde. Die größeren erhoben sich kugelig über das Niveau und ließen sich beim Klatschpräparat als Ganzes herausheben.

Bei 60-facher Vergrößerung zeigte sich kaum ein Unterschied zwischen oberflächlichen und tiefen Kolonieen; fast alle erschienen in gleicher Weise als ganzrandige, hellbräunlich durchschimmernde Scheiben mit feiner Körnelung. Nur einige Kolonieen an der Oberfläche, die Hirsekorngröße erreicht hatten, besaßen eine dunkler braune Mitte, die allmählich in die helleren Randpartieen überging. Der Rand war anfangs bei einigen fein gezähnelt. Endlich wurden jetzt auch Bakterienhäufchen sichtbar, die dem nur mit Lupe bewaffneten Auge entgingen. Sie stellten sich als kleine bräunliche, unregelmäßig höckerige, gröber gekörnte Bröckel dar. Bei einigen Platten kam es überhaupt nicht über dieses Stadium hinaus zur Ausbildung besserer Kolonieen.

Niemals wurde die Gelatine verflüssigt.

Bei Immersionsvergrößerung zeigten sich im Methylenblaupräparat segmentierte Stäbchen, aber in recht mäßiger Ausbildung; besonders die T 2-Kultur, bei der sonst die großen Stäbchen auffielen, entwickelte hier auch ganz im Anfange nur kurze, plumpe Individuen. Polkörperchen waren bei der Neisser-Färbung nur sehr vereinzelt, meist überhaupt nicht zu entdecken.

Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen traten nicht hervor.

Feste Nährböden.

Loeffler-Serum erwies sich im allgemeinen durchaus als der beste Nährboden für die Stämme. Sie wuchsen alle in Gestalt weißlichgelber Kolonieen, die bald zum üppigen, glänzenden, fast saftigen Belage zusammenflossen. Nur T 2 wuchs auf Serum anfangs nicht so gut wie auf Agar, erst nach der Uebertragung vom Agar aus fand auch im Serumröhrchen ein üppiges Wachstum von T 2 statt. Bei der Wiederaufzüchtung des geschwächten Stammes, die auf Loeffler-Serum und Agar parallel miteinander versucht wurde, machte sich etwas Aehnliches bemerkbar: Auf Agar fing das Wachstum weit früher, wenn auch noch recht schwach, wieder an, so daß z. B. für die Immunisierung des Kaninchens T 2 zuerst nur vom Agarröhrchen einigermaßen Material zu gewinnen war. Dann aber überholte schließlich das Wachstum auf Loeffler-Serum das auf Agar.

Unterschiede zeigten sich sonst nur in dem Farbenton:

T 1 war besonders an dichteren Stellen deutlich gelblich.

T 2 etwas weniger gelb, mehr weißlich.

H 1 desgleichen.

M 1 war fast rein weißlich.

M 2 wiederum zeigte auch auf den anderen Nährböden einen gelblichen Schimmer.

Schräger Glyzerinagar:

T 1: zahlreiche punkt- bis stecknadelkopfgroße Kolonieen, die bald zum dichten, leichtgelblichen Belage zusammenflossen.

T 2: üppiges Wachstum eines grauweißlichen, glänzenden Belages.

H 1: wie T 1, nur kein deutlicher gelber Farbenton.

M 1: punktgroße Einzelkolonieen, die eben zum weißlichen Belage zusammenflossen.

M 2: wie M 1, aber schwach gelblich.

Traubenzuckeragarstich.

Das Wachstum an der Oberfläche überwog das im Stichkanal, welches bald still stand. Gas wurde nicht gebildet. Es entwickelte sich oben rasch ein runder Knopf, der in 1 Woche bei einigen bis auf doppelte Linsengröße anwuchs; seine anfangs glatte und glänzende Oberfläche wurde dann genabelt und matter und wies schließlich leichte Körnelung und radiäre Streifung auf. Am Rande entwickelten sich stellenweise plumpe Ausbuchtungen. Im Stichkanal wuchs ein feinkörnig schleieriges Bändchen mit etwas dichterem, guirlandenförmigem Saume, der sich oft in feiner Zähnelung auffaserte. Abgesehen von mäßiger Dichtezunahme in den ersten beiden Tagen blieb das Bändchen auf dieser Stufe stehen und drang nicht weiter in die Umgebung vor. Im einzelnen:

T 1: Knopf deutlich, wenn auch leicht gelblich; beinahe doppelt linsengroß.

T 2 wurde erst später untersucht, als er schon entartet war, und zeigte daher ein quantitativ schwächeres, qualitativ ganz gleiches Wachstum: nämlich einen nur stecknadelkopfgroßen Knopf und ein sehr dünnes Bändchen.

H 1: bis gut hirsekorngroßer, schwach gelblicher Knopf.

M 1: sehr großer, über doppelt linsengroßer, weißer Knopf.

M 2: leicht gelblicher Knopf, wie T 1.

Ascitesagar:

Alle 5 Stämme wuchsen gleichmäßig in Gestalt eines weißlichen, üppigen Belages längs des Impfstreifens mit guirlandenförmigem dichteren Saume. Ueber die glänzende, glatte Oberfläche erhoben sich, besonders in den Randausbuchtungen, einige flachkugelige, manchmal leicht gelbliche Kolonieen.

Blutagar

wurde nicht aufgehellt. Es traten zahlreiche punkt- bis stecknadelkopfgroße Kolonieen auf, die mehr oder minder zum reichlichen Belage zusammenflossen, der an dünneren Stellen den Nährboden rötlich durchschimmern ließ.

T 1: guter, glänzender, an den dichteren Randpartieen schmutziggelblicher Belag.

T 2: matter, rötlicher Schleier, über den sich viele größere, farblose Einzelkolonieen erhoben.

H 1: wie T 1.

M 1: Belag am Rande grauweißlich.

M 2: wie T 1.

Drigalski-Platte

lieferte bei T 1, H 1, M 1 und M 2 gute, bis stecknadelkopfgroße, weißlichblaue Kolonieen, die zu mehr oder minder reichlichen, glänzenden, bläulich durchschimmernden Belägen zusammenflossen. Nur

T 2 verhielt sich auffallend anders: Am Rande einer ausgedehnten, oberflächlichen, hauchigen Trübung traten zahlreiche punktförmige bis kleinstecknadelkopfgroße Kolonieen auf, die nur vereinzelt einen dichteren Belag bildeten. Im Wachstumsgebiete sowie noch ca. $^1/_2$ cm darüber

hinaus zeigte sich bald eine deutliche Rötung. Diese Säurebildung fand in gleicher Weise auch in flüssigen Medien statt; s. u. (der Ausstrich auf Drigalski-Platte war bei T 2 erst von dem degenerierten Stamme gemacht worden).

Schräge Gelatine

lieferte ebenso wenig charakteristische Bilder wie die Gelatineplatte. Langsam entstand ein spärlicher, durchscheinender, farbloser, matt glänzender Belag und punktgroße, versprengte Einzelkolonieen. Verflüssigung trat nie ein.

T 2 (nach der Entartung) zeigte nur einen hauchartigen Schleier, keinen erkennbaren Belag.

M 1 wuchs am besten, so daß der Belag schon weißlich erschien.

Der Gelatinestich

ergab das Gleiche wie der Agarstich, nur in schwächerem Maße, da die Diphtheriebacillen bei Zimmertemperatur ja schlecht wachsen: An der Oberfläche wuchs ein bis hirsekorngroßer, weißlicher, schwachglänzender Knopf, in der Tiefe ein hauchiges, feinkörniges, durchscheinendes Bändchen mit ein wenig dichterem, feingezackten Saume. Einige versprengte, punktartige Einzelkolonieen entwickelten sich nicht weiter. Verflüssigung trat in keiner Weise auf.

T 2 wuchs auch schon im Anfange hier so schlecht, daß es an der Oberfläche einen kaum angedeuteten Knopf erzeugte.

Schräge Traubenzuckergelatine:

Es entstand auch im Laufe einer Woche nur ein mäßiger, weißlicher, durchscheinender, mattglänzender Belag, der sich höchstens bei

H 1 und M 2 stellenweise zum leicht gelblichen Streifen verdichtete, während

T 2 vorwiegend nur einen staubförmigen Hauch mit vereinzelten größeren Flöckchen ausbildete.

Kartoffel

war ein ebenso schlechter Nährboden; es wuchs nur ein schwach sichtbarer, matter, schleierartiger, weißlichgrauer Belag, der bei

H 1 und M 2 allmählich eine schmutziggelbe bis leicht bräunliche Farbe annahm.

Tellurserum

dagegen erwies sich für alle 5 Stämme als vorzüglich; bei allen fand in ziemlich gleicher Weise bereits am ersten Tage ein üppiges Wachstum eines glänzend schwarzen Belages mit guirlandenförmigem Rande und einiger versprengter, bis hirsekorngroßer Einzelkolonieen statt. Die in den nächsten Tagen neu entstandenen Randpartieen konnten dann wohl nicht mehr genügend metallisches Tellur zur Aufnahme finden und blieben daher weiß, so daß schließlich an allen neu bewachsenen Stellen ein mehr oder minder breiter weißer Wall die schwarze Mitte umschloß. Mikroskopisch waren die Stäbchen hier sehr gut ausgebildet und besaßen fast sämtlich ihre typischen Polkörperchen.

Selenserum

zeitigte fast ebenso gute Resultate: Die stecknadelkopfgroßen Kolonieen waren meist zum üppigen, glänzenden Belage mit guirlandenförmigem Rande zusammengeflossen. Während im Anfang ziemlich gleichmäßig

eine rosa- bis hellrote Farbe auftrat, nahm diese im Laufe der folgenden Tage zwar in den älteren Teilen an Intensität zu, die neu wachsenden Randpartieen aber blieben farblos, so daß schließlich die ausgesprochen rote Mitte von einem desto auffallender weißen Saume umgeben war. Mikroskopisch zeigten die Stäbchen die beste Ausbildung. Nur in der Farbstoffbildung fanden sich kleine Differenzen der einzelnen Stämme:

T 1 und T 2 entwickelten von Anfang an ein prächtiges, sattes Rot.

H 1 war anfangs nur hellrosa, um jedoch nach einer Woche geradezu ziegelrot zu erscheinen.

M 1 war von Anfang bis zu Ende heller, wenn auch deutlich rot.

M 2 nahm bald ausgesprochene Rotfärbung an.

Flüssige Nährmedien.

Bouillon:

Am 1. Tage bildete sich eine diffuse mäßige Trübung und ein ziemlich reichlicher lockerer Bodensatz, der beim Umschütteln in feinkörnigen Schleiern und kleinen Flocken aufwirbelte; allmählich ballte er sich zu größeren Flocken zusammen und füllte so die Kuppe des Glases, während die Flüssigkeit sich klärte. Mit Ausnahme von M 1, wo der Bodensatz rein weißlich war, nahm er bei den 4 anderen Stämmen eine leicht gelbliche Färbung an.

Ein paar Mal trat ein Kahmhäutchen auf; da dieses sich aber beim ersten Male als Verunreinigung herausstellte, wurde das Gleiche — vielleicht mit Unrecht — auch bei den anderen Fällen angenommen und sogleich eine neue Kultur angelegt, in der sich dann freilich nicht wieder ein Häutchen zu bilden pflegte. Bei den späteren T-Stämmen erwies sich indessen ein solches Häutchen, das bei mehreren und zwar konstant auftrat, stets als aus Diphtheriebacillen bestehend.

Milch:

Ein Ausstrich auf Loeffler-Platte einige Tage nach der Beimpfung gab von dem guten Wachstume in ihr Kunde. T 1, H 1, M 1 und M 2 brachten die Milch auch im Laufe von 3 Monaten nicht zur Gerinnung und ließen sie unverändert. Aber T 2 zeigte sich hier wie auch auf Drigalski-Platte (s. o.) als säurebildend: Nach der Beschickung sowohl mit dem frischen, wie nachher mit dem degenerierten Stamme war die Milch am 2. Tage gelatinig zäh und am 3. Tage zu einer festen Masse geronnen, über der sich das klare Serum abschied.

Traubenzuckerbouillon mit Lackmuszusatz:

Aehnlich wie bei reiner Bouillon entstand auch hier anfangs eine mäßige diffuse Trübung, bald ein reichlicher flockiger Bodensatz. Bei T 1, M 1 und M 2 trat weder in den ersten Tagen noch nach einer Woche oder späterhin eine Farbänderung der violetten Lösung auf, höchstens eine kaum erkennbare, ganz schwache Bläuung. Bei H 1 zeigte sich im Laufe einer Woche ein leichter roter Schimmer. Bei T 2 — und zwar wieder sowohl bei den frischen als bei den alten Bacillen — wo sich Trübung und Bodensatz sonst genau so wie bei den anderen Stämmen verhielten, entstand nach einem Tage eine schwache, bald sehr ausgesprochene Rötung.

Lackmusmolke:

In alkalischer, blauer Lackmusmolke fand ein etwas schwächeres aber noch recht gutes Wachstum statt in Gestalt einer zuerst auftretenden

schwachen Trübung und dann eines kleinflockigen Bodensatzes. Eine Farbänderung trat nur bei T 2 ein, wo sich allmählich eine Rötung entwickelte, die aber nicht so stark wie auf Drigalski-Platte und in Traubenzucker-Lackmusbouillon wurde.

Somit erhellt aus der gesamten kulturellen Untersuchung, daß die von den kranken Tieren isolierten Mikroorganismen sich morphologisch und kulturell in weitgehendstem Maße übereinstimmend mit den gleichzeitig untersuchten menschlichen Diphtheriebacillen verhielten. Der einzige Punkt, in dem T 2 sich anders als die übrigen Stämme erwies, ist seine Säureproduktion. Aber diese steht durchaus in Einklang mit den Eigentümlichkeiten der echten Diphtheriebacillen. Während diesen früher von den einen Autoren die Alkali-, von anderen gerade die Säureproduktion als charakteristisch gegenüber den „Pseudodiphtheriebacillen" zugeschrieben wurde, ist man jetzt im allgemeinen der Ansicht, daß beides vorkommt. In den ersten Tagen erzeugen alle Diphtheriebacillen mäßige Säuremengen; bei vielen erfolgt dann bald ein Umschlag in alkalische Reaktion des Nährbodens, einige aber fahren mit der Säureproduktion noch länger fort, bis die angesammelte Säure ihrem weiteren Wachstume ein Ende bereitet. Vgl. Springer (30).

Dieser kulturelle Nachweis der engen Verwandtschaft der beiden Bacillengruppen wurde nun noch, wenigstens für T 1 und T 2, mit der serologischen Methodik erhärtet. Vorher soll aber zuerst über die überraschenden neuen Tatsachen berichtet werden, die gelegentlich der Impfversuche zutage traten.

2. Diphtheriebacillen gesunder Tauben.

Um die Tierpathogenität der obigen Diphtheriebacillen zu untersuchen, wurde von der Prüfung der Toxizität für Meerschweinchen Abstand genommen, da bei den Virulenzverschiedenheiten der echten Diphtheriebacillen (cf. u. a. Lubowski [17]) diese Versuche nichts Neues hätten beweisen können. Wohl aber wurde die Impfung auf Tauben in Angriff genommen. Dabei offenbarte sich, als zur Kontrolle bei den Tauben des Hygienischen Instituts vor den Infektionen Rachenabstriche gemacht wurden, die interessante Erscheinung, daß von 18 untersuchten gesunden Tauben sämtliche Diphtheriebacillen im Rachen trugen! Es wurde mit den Rachentupfern je ein Loeffler-Röhrchen bestrichen; am nächsten Tage fanden sich dann neben mannigfachen Kokken und Stäbchen (auch verflüssigende Keime traten auf) stets mehr oder minder zahlreiche Bakterien, die bei der Neisser-Färbung Polkörperchen besaßen. Nur einmal, bei Taube 15, wurden im ersten Abstriche keine Bacillen mit Polkörpern entdeckt; aber ein zweiter Abstrich lieferte sie auch hier. Von den Loeffler-Röhrchen wurde nunmehr je ein Ausstrich auf Tellurplatte gemacht, und hier entwickelten sich meist die typischen schwarzen Kolonieen; oft war allerdings ein erneuter Ausstrich von dieser Tellurplatte aus notwendig, wenn andere Keime noch zu sehr überwogen. Schließlich gelang es aber doch stets, von einer isolierten Einzelkolonie aus Reinkulturen anzulegen. Zwei Stämme (T 5 und T 16) bereiteten erst insofern eine kleine Schwierigkeit, als sie auf der Tellurplatte am ersten Tage nur uncharakteristische graue Kolonieen entwickelten. Am zweiten Tage jedoch hatten auch diese ein sattes Schwarz erhalten. Die Stämme sind in folgendem fortlaufend mit T 3 bis T 20 bezeichnet.

Im Anschluß an die nähere Schilderung der von den gesunden Tauben isolierten Bacillen sollen gleich noch 2 Bakterienstämme abgehandelt werden, die von zwei mit unbestimmten Erscheinungen erkrankten Hühnern gewonnen worden waren: Es waren nämlich am 18. Oktober 1913 dem Hygienischen Institut von einem Händler 2 kranke Hühner zur Beobachtung überbracht worden. Außer Mattigkeit und etwas struppigem Gefieder zeigten sie nichts Auffälliges; H 2 wies ein knapp linsengroßes, ovales Geschwür am Boden der Schnabelhöhle vorn rechts unter der Zunge mit mäßig belegtem Grunde auf, das nach einiger Zeit spontan abheilte. Von beiden Hühnern ließen sich aus dem Rachenabstrich auf gleiche Weise wie bei den Tauben Reinkulturen von Stäbchen mit Polkörnern herstellen, die im folgenden als H 2 und H 3 geführt sind.

Morphologie und allgemeines Verhalten.

Es handelte sich um Bacillen aller Größe. Von den kleinsten Stäbchen, die zum Teil noch ein wenig kleiner als M 2 waren, fanden sich alle Uebergänge, schlanke und breite, bis zu den größten und plumpesten Formen, wie sie T 2 in seiner Blütezeit erzeugt hatte. Viele waren leicht gekrümmt; Gruppenanordnung, speziell Palisadenform, war sehr häufig. Auffällig waren besonders die Größen- und Formenschwankungen der Individuen desselben Stammes: Schon innerhalb derselben Kultur zeigte sich bei den wenigsten die Gleichheit der einzelnen Stäbchen an Größe, Form und Polkörperbildung, welche die 5 oben geschilderten Stämme im allgemeinen auszeichnete; sehr oft erblickte man bei der Neisser-Färbung im selben Ausstriche gut entfärbte, feine Stäbchen mit zierlichen Polkörperchen unmittelbar neben gewaltigen, ungeschlachten Gesellen mit klobigen Polkörnern, die manchmal fast den ganzen Zelleib erfüllten und das Methylenblau zähe festhielten. Derselbe Wechsel trat beim Uebertragen von einem Röhrchen auf ein neues auf, speziell als von den ersten Loeffler-Kulturen aus Agarplatten gegossen und dann von den Plattenkolonieen neue Reinkulturen auf Loeffler-Serum angelegt wurden: Mehrere Stämme entwickelten da auf Agar nur sehr kümmerliche, plumpe Stäbchen ohne Polkörperchen und erholten sich auch auf Loeffler-Serum erst nach erneuten Uebertragungen zur alten Blüte. Besonders bei den Stämmen T 6, 11, 12 und 14 zeigte sich dies Verhalten, am stärksten bei T 6, das seine Polkörperchen zwischendrein fast ganz verlor, um sie aber auffallend rasch wiederzuerlangen. Das umgekehrte Verhalten zeigten die Stämme T 9, 17 und H 3. Diese besaßen von Anfang an nicht den Reichtum an Polkörnern, der alle anderen Stämme auszeichnete, und verloren auch diesen Rest allmählich fast ganz, während sie kulturell ihr gutes Wachstum beibehielten. Daß es sich wenigstens bei T 9 trotzdem wohl nicht um Pseudodiphtheriebacillen, sondern um entartete echte Diphtherie handelte, beweist die Agglutinationsfähigkeit dieses Stammes, wie unten dargelegt werden wird.

Mit Methylenblau färbten sich alle Stäbchen gut und zeigten sehr oft Segmentierung. Alle waren ferner unbeweglich im hängenden Tropfen und grampositiv. Auch hier fanden sich freilich oft einzelne entfärbte Trümmer und Leichen im Grampräparat.

Gestalt und Polkörperchen der einzelnen Stämme.
(„B“ = Bacillen, „PK“ = Polkörperchen.)

T 3: Kleine und viele sehr große B; sehr viele zierliche und plumpe PK.
T 4: Kleine bis mittlere B; sehr viele zierliche und später plumpe PK.
T 5: Kleine und mittelgroße B; sehr viele zierliche PK.
T 6: Mittlere schlanke B; anfangs ca. 1/10, dann fast keine, dann viele zierliche PK.
T 7: Mittellange, schlanke B; viele zierliche, einzelne plumpe PK.
T 8: Kleine, feine B; viele zierliche, einzelne plumpe PK.
T 9: Kleine bis mittlere B; ca. 1/10, zierliche PK, abnehmend bis ca. 1/100.
T 10: Mittelgroße, schlanke B; sehr viele große, runde PK.
T 11: Kleine und große B; viele zierliche und später besonders plumpe PK.
T 12: Kleine und mittelgroße B; später viele große, runde PK.
T 13: Kleine und mittlere B; viele zierliche, einzelne plumpe PK.
T 14: Kleine und später sehr große B; sehr viele zierliche und später plumpe PK.
T 15: Kleine bis mittlere B; sehr viele zierliche PK.
T 16: Mittlere und lange, schlanke B; viele zierliche, einzelne plumpe PK.
T 17: Mittlere bis lange, schlanke B; anfangs ca. 1/10, dann sehr spärliche zierliche PK.
T 18: Kleine und mittlere B; viele zierliche und plumpe PK.
T 19: Mittellange, schlanke B; sehr viele zierliche, später auch plumpe PK.
T 20: Mittlere und feine B; einige zierliche und viele große, runde PK.
H 2: Mittlere bis lange, schlanke B; ca. 1/10, zierliche PK.
H 3: Mittelgroße B; viele zierliche und große PK, später spärlicher.

Agarplatten.

Auf Agarplatten ließen sich im allgemeinen dieselben Bilder beobachten, wie sie oben für die 5 ausführlicher geschilderten Stämme bereits dargelegt worden sind. Auch hier traten viele kleine, punktgroße, gelbbräunlich durchschimmernde, meist ganzrandige, fein gekörnte Kolonieen in allen Tiefen auf, von denen die an der Oberfläche sich oft mit einem dünnen, hellen Hofe mit fein gezähntem Rande umgaben. Daneben fanden sich Uebergänge bis zu linsengroßen, weißlich-gelben bis gelbbraunen Kolonieen, die sich glänzend über die Oberfläche flachkugelig erhoben und unter dem Mikroskop im Inneren entweder einen Kern, oft auch Schollen erkennen ließen, oder nur eine allmähliche Dichtenzunahme aufwiesen. Der Rand war fast immer rundlich und entweder ganz glatt oder feingezähnelt; nur ausnahmsweise fanden sich plumpe, bogenförmige Ausbuchtungen. Einige Stämme brachten es allerdings nur zum Entstehen der kleinen, punktartigen Kolonieen, sowie zahlreicher kleiner bräunlicher, oft gebuckelter Bröckel, die erst unter dem Mikroskope erkennbar wurden.

Wachstum der Einzelkolonieen.

T 3: Bis Hirsekorngröße; hellbräunlich; meist strukturlos.
T 4: Fast bis Linsengröße; hellbräunlich; grobe Körnelung; oft Schollen.
T 5: Wenig über Punktgröße; ziemlich hell.
T 6: Bis über Hirsekorngröße; zum Teil mit Kern, zum Teil mit vielen Schollen.
T 7: Bis Stecknadelkopfgröße; viele kleine Schollen buckeln oft den Rand.

T 8: Bis Linsengröße; ziemlich strukturlos; stellenweise Ausbuchtungen.
T 9: Bis Hirsekorngröße; gelblich; viele kleine Schollen.
T 10: Bis Linsengröße; bräunlich; stellenweise gebogter Rand.
T 11: Bis über Hirsekorngröße; bräunlich; oft Schollen.
T 12: Bis Stecknadelkopfgröße; gelblich; meist glattrandig.
T 13: Bis über Hirsekorngröße; hellbräunlich; oft Schollen.
T 14: Bis Stecknadelkopfgröße; schwach bräunlich.
T 15: Bis Hirsekorngröße; daneben viele Bröckel.
T 16: Wenig über Punktgröße; viele Bröckel.
T 17: Bis über Hirsekorngröße; hellbräunlich; ziemlich strukturlos.
T 18: Bis über Hirsekorngröße; viele Schollen.
T 19: Knapp bis Punktgröße; vorwiegend dunkle Bröckel.
T 20: Meist bis Punktgröße; wenige bis Stecknadelkopfgröße; bräunlich.
H 2: Bis Hirsekorngröße; hellgelblich; oft kleine Schollen.
H 3: Bis Stecknadelkopfgröße; vereinzelte Schollen.

Loeffler-Serum.

Loeffler-Serum war auch für diese Stämme mit wenigen Ausnahmen der beste Nährboden. Im allgemeinen trat bei nicht zu spärlicher Beimpfung das Wachstum von runden, bis hirsekorngroßen glänzenden Einzelkolonieen zurück hinter dem überwiegenden reichlichen Belage. Dieser zeigte meist an seiner glatten Oberfläche feuchten Glanz; bei mehreren Stämmen jedoch war der Belag matter und mehr oder minder deutlich gekörnt. (Dementsprechend war die Bakterienmasse auch nicht so gut zu den Agglutinationen aufzuschwemmen wie bei feuchterem Wachstume, sondern blieb großenteils krümelig.) Dieses Verhalten war jedoch nicht bei allen betreffenden Stämmen konstant, sondern änderte sich manchmal bei der Uebertragung auf neues Serum. Die Farbe des Belages wies bei den verschiedenen Stämmen alle Nuancen von Weiß bis zum ausgesprochenen Gelb auf. Auch sie verhielt sich nicht konstant; dies fiel besonders einmal bei T 11 auf, als eine von einem deutlich gelben Belage aus angelegte Kultur rein weißlich wuchs ohne jeden gelben Farbenton. Weniger reichlich, aber immerhin noch ganz gut, war das Wachstum nur bei T 13, 18 und H 3; bei den beiden ersten war es dagegen auf Agar recht gut gewesen.

Im Einzelnen Belag bei:

T 3: Reichlich, feucht glänzend, weißlich.
T 4: Reichlich, feucht glänzend, leicht gelblich.
T 5: Reichlich, feucht glänzend, weißlich-gelb.
T 6: Reichlich, feucht glänzend, leicht gelblich.
T 7: Reichlich, matt, krümelig, weißlich.
T 8: Reichlich, matt, krümelig, gelb.
T 9: Reichlich, feucht glänzend, weißlich.
T 10: Reichlich, matt, krümelig, gelb.
T 11: Reichlich, matt, krümelig, gelb und weiß (s. oben).
T 12: Reichlich, matt, krümelig, gelb.
T 13: Mäßig, schwach glänzend, gelblich-weiß.
T 14: Reichlich, matt, krümelig, gelblich.
T 15: Reichlich, matt, krümelig, gelblich-weiß.
T 16: Reichlich, feucht glänzend, weißlich.
T 17: Reichlich, schwach glänzend, weißlich.
T 18: Mäßig, glänzend, weißlich-gelb.

T 19: Reichlich, matt, krümelig, weißlich-gelb.
T 20: Reichlich, feucht glänzend, weißlich.
H 2: Reichlich, glänzend, weißlich-gelb.
H 3: Mäßig, glänzend, zum Teil gekörnt, leicht gelblich.

Tellurserumplatten

erwiesen sich als ebenso guter Nährboden wie reines Loeffler-Serum und wurden, wie oben erwähnt, um der charakteristischen Schwarzfärbung der Kolonieen willen zur Auffindung der Diphtheriebacillen aus den Rachenabstrichen benutzt. Fast bei allen in gleicher Weise wuchsen neben dem mehr oder minder reichlichen Belage ebenso schwarz glänzende runde Einzelkolonieen, deren Größe sich zwischen Stecknadelkopf- und Hirsekorngröße bewegte. Daß nur die Kolonieen von T 5 und T 16 mit der satten Schwarzfärbung anfangs zögerten, sie aber nach 2 Tagen auch erwarben, ist bereits oben geschildert.

Schräge Gelatine.

Das Wachstum auf Gelatine ließ ein so geringes und wenig prägnantes Bild entstehen, daß es sich nicht lohnt, im einzelnen darauf einzugehen. Verflüssigung trat niemals ein. Es wuchs nur ein kaum sichtbarer, hauchartiger Schleier oder ein mehr oder minder durchscheinender, höchstens schwach weißlicher Belag mit matter Oberfläche.

Der Traubenzuckeragarstich

lieferte wenig Neues zur Kenntnis der Bacillen. Gasbildung trat niemals auf. Das Wachstum im Stichkanal stand zurück hinter dem an an der Oberfläche, wo sich bald ein rundlicher glänzender Knopf entwickelte, dessen Größenzunahme im großen ganzen dem Wachstum des Stammes auf der Agarplatte entsprach.

Die Blutagarplatte

zeitigte als Wichtigstes das negative Ergebnis, daß kein Stamm den Blutfarbstoff zersetzte. Die meisten wuchsen recht gut in Gestalt eines mehr oder minder breiten, weißlichen bis schmutzig-rot durchscheinenden, glänzenden Belages ohne Hof. T 16, T 20 und H 3 blieben hinter den anderen zurück und bildeten nur einen durchscheinenden, farblosen Impfstreifen.

Bouillon

ließ alle Stämme gut gedeihen. Es bildete sich rasch eine mäßige Trübung, dann ein reichlicher, mehr oder minder dichter Bodensatz. Auffällig war außerdem die Bildung eines Häutchens bei T 8, T 10, T 11, T 12 und T 14. Dieses bestand wie die Untersuchung mit der Neisser-Färbung, so wie ein Ausstrich auf Loeffler-Platte zeigte, nur aus gut entwickelten Diphtheriebacillen. Eine zweite Bouillonkultur lieferte bei T 8, 10, 12 und 14 das gleiche Häutchen, T 11 dagegen entwickelte diesmal kein Häutchen, sondern nur reichlich flockigen Bodensatz; ein Beweis dafür, daß auch diese Wachstumsverschiedenheiten von keinem prinzipiellen Unterschiede zeugen. T 20 entwickelte in ähnlicher Weise im 1. Bouillonröhrchen einen kleinen Ansatz eines Häutchens von Diphtheriebacillen, im 2. Röhrchen dagegen nicht.

Die Säureproduktion

der 20 Stämme wurde gleichzeitig auf Drigalski-Platten, in (etwas rötlicher) Traubenzuckerbouillon mit Lackmuszusatz und in (alkalischer)

Lackmusmolke geprüft. Die Stärke des Wachstums bot nichts Besonderes, da es durchaus dem auf Agar bzw. in reiner Bouillon entsprach; nur daß auf der Traubenzuckerbouillon kein Stamm ein Häutchen bildete. In der Lackmusmolke entstand vorübergehend eine ganz leichte Trübung; hier wuchs ein Häutchen bei denselben Stämmen wie auf der Bouillon, nämlich bei T 8, 10, 11, 12 und 14.

Uebersicht über die Farbreaktionen.

	Traubenzuckerlackmus-Bouillon (schwach rot)	Drigalski-Agar	Lackmusmolke (blau)
T 3	Keine Aenderung	Blau	Keine Aenderung
„ 4	„ „	„	„ „
„ 5	Anfangs blauer Schimmer, dann wie zuerst	„	„ „
„ 6	Keine Aenderung	„	„ „
„ 7	Rot	Rot	Roter Schimmer
„ 8	Keine Aenderung	Blau	Keine Aenderung, Häutchen!
„ 9	„ „	„	Keine Aenderung
„ 10	Rot	Schwach rot	Roter Schimmer, Häutchen!
„ 11	„	Ganz schwach rot	„ „ „
„ 12	„	Schwach rot	„ „ „
„ 13	Keine Aenderung	Blau	Keine Aenderung
„ 14	Rot	Schwach rot	Roter Schimmer, Häutchen!
„ 15	Ganz leichte Rötung	Blau	Keine Aenderung
„ 16	Keine Aenderung	„	„ „
„ 17	„ „	„	„ „
„ 18	„ „	„	„ „
„ 19	„ „	„	„ „
„ 20	„ „	„	„ „
H 2	Anfangs blauer Schimmer, dann wie zuerst	„	„ „
„ 3	Rot	Schwach rot	Roter Schimmer

Es zeigte sich also eine gute Uebereinstimmung der Säureproduktion der einzelnen Stämme in den verschiedenen Medien. Die Drigalski-Platte reagierte viel deutlicher als die wohl zu alkalische Lackmusmolke auf die geringen erzeugten Säuremengen. Daß die Säureproduktion mit der Häutchenbildung keinen Zusammenhang hat, zu welcher Annahme man bei der Betrachtung der Stämme T 10, 11, 12 und 14 neigen möchte, zeigt das verschiedene Verhalten von T 7 und H 3 einerseits und T 8 andererseits.

Mithin resultiert aus der kulturellen Untersuchung, daß auch die Diphtheriebacillen des gesunden Geflügels durchweg die beste Uebereinstimmung untereinander und mit den menschlichen Diphtheriebacillen besitzen. Auch hier sollen nachher die Ergebnisse der Agglutinationen das entscheidende Wort sprechen.

III. Teil.

Impfversuche mit Tauben.

Daß die für die Impfversuche in Aussicht genommenen Tauben bereits Diphtheriebacillen im Rachen trugen, ohne zurzeit darunter zu leiden, war also sehr wahrscheinlich geworden. Ob diese Diphtheriebacillen ganz indifferente Saprophyten für die Tauben darstellten oder ob die Tiere früher bereits eine Infektion durchgemacht hatten, ließ sich ohne weiteres nicht entscheiden, wie bei den meisten Bacillenträgern. Es war ja häufiger eine Taube des Stalles eingegangen, aber eine größere Epidemie war nicht bemerkt worden.

Auch während der Beobachtungszeit starb spontan eine Taube (No. 11), einige Tage nachdem der Rachenabstrich bei ihr gemacht worden war (am 23. Okt.). Die Sektion stellte bei ihr außer stark gefülltem Kropf und Magen nur einen sehr blutreichen sowie mit reichlichem flüssigen Inhalte und sehr viel Nematoden gefüllten Darm fest, während die anderen Organe ohne Besonderheiten waren, so daß eine Nematodenenteritis als die wahrscheinlichste Todesursache erschien. Im Rachen fand sich eine linsengroße, weißlich-glasige Schleimflocke, in der Diphtheriebacillen nachzuweisen waren; sonst zeigten sich weder im Sekret der oberen Luftröhre noch an der Bifurkation noch im Herzblute diese Bakterien.

Um die Pathogenität der 5 in Betracht kommenden Bakterienstämme zu untersuchen, erschien es somit aussichtslos, das bloße Einatmenlassen durch diese Tauben zu versuchen. Auch alle anderen Autoren berichten ja von der Erfolglosigkeit des einfachen Bepinselns der Schleimhäute mit Diphtheriebacillen. Darum wurde vielmehr ein schärferes Vorgehen gewählt und am 23. Oktober 6 Tauben je eine ganze reichliche lebende Loeffler-Röhrchenkultur, in 1,0—1,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, in den linken Brustmuskel injiziert (s. u. die Tabelle). Von der Injektion der Bacillen T 2 wurde Abstand genommen, da diese bereits zu sehr entartet erschienen. Die Tauben wurden dann in kleinen Käfigen isoliert (nur T 3 und T 15 kamen zusammen in ein Bauer) und wie früher weiter gepflegt und beobachtet.

Das Ergebnis der Impfung war zunächst ziemlich gering: Die meisten Tauben zeigten sich in ihrem Befinden nicht merklich beeinflußt; nur Taube 4 war am 24. und 25. Okt. schläfrig und bewegungslos und reagierte nicht auf Annäherung der Hand, wobei die anderen zu scheuen pflegten. Nach 3 Tagen erholte auch sie sich völlig.

Nach 11 Tagen (3. Nov.) wurden die Tiere getötet, indem ihnen der Hals nach Alkoholdesinfektion mit einem Scherenschlage durchschnitten wurde. Das hervorspritzende Blut wurde möglichst steril aufgefangen und zu den Agglutinationen (s. u.) verwandt. Die Sektion ergab speziell im Rachen nichts Auffälliges, nur bei Taube 4 fand sich eine stärkere allgemeine Abmagerung. Wohl aber fand sich am Injektionsorte an der Innenfläche des linken Brustmuskels an der Stelle der Fascie bei 5 Tauben je eine gut bohnengroße, gelbliche, weiche, aber trockene Masse anscheinend nekrotischen Gewebes. Der Ausstrich aus diesen Massen auf Tellurplatte ergab bei 4 Tieren sehr spärliche Diphtheriebacillen mit schwacher Wachstumstendenz. Bei der 6. Taube fand sich an der betreffenden Stelle ein fast pflaumengroßes Hämatom.

Taube	erhielt Bacillen	Krankheits-erscheinungen	An der Injektionsstelle makroskopisch	Diphtheriebacillen
3	T 3	keine	Nekrose	+
15	T 15	„	„	—
10	M 1	„	Hämatom	—
13	M 2	„	Nekrose	(+)
17	T 1	„	„	+
4	H 1	vorübergehende Abmagerung	„	+

Die Herstellung der histologischen Präparate hatte Fräulein Pistorius übernommen, wofür ich ihr auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche. Es zeigten sich darin mehr oder minder große nekrotische Gewebsbezirke, die in der Mitte nur noch sehr vereinzelte Kernreste erkennen ließen, während an den Randteilen

die Gewebskerne pyknotisch entartet waren. Darum herum fand sich eine mäßig breite kleinzellige Infiltrationszone und vereinzelt kleinere Infiltrationsherde weiter in den Muskel hinein versprengt. Die kernfreien Stellen zeigten meist deutlich körnige Koagulationsnekrose; an einigen Stellen (speziell bei T 3) ließ sich noch die Querstreifung der abgestorbenen Muskelsubstanz erkennen. Im Methylenblaupräparat waren nirgends mehr Bacillen zu entdecken. Auch die Fibrinfärbung gab keine positiven Resultate. Im einzelnen:

T 3: ausgedehnte Nekrosen in allen Stadien, weitreichende Infiltrationsherde.

T 15: ausgedehnte, innen kernfreie Nekrose, am Rande Kerndegeneration, darum die Infiltrationszone.

T 10: zahllose (kernhaltige) Erythrocyten, am Rande eine kleine körnig-nekrotische Stelle mit vereinzelten Kernresten.

T 13: ausgedehnte Nekrose, stellenweise mit vielen Kernresten (Blutung?), umgeben von mäßiger Infiltrationszone; vereinzelte kleine Herde.

T 17: nur normales Muskelgewebe im Schnitt, sowie ein Stück Fascie mit prall gefüllten Gefäßen.

T 4: ausgedehnte Nekrosen aller Stadien und starke Infiltration.

Daß bei T 17 nur normales Gewebe im Präparat war, lag wohl an Zufälligkeiten bei der Herausnahme oder weiteren Bearbeitung des betreffenden Stückes. Makroskopisch hatte sich bei der Sektion auch hier genau dieselbe gelbliche Masse gefunden wie bei den anderen 4 Tauben. Und da sich bei diesen sämtlich ausgedehnte Nekrosen zeigten, so ist wohl der Schluß gerechtfertigt, daß auch bei T 17 die gleiche Nekrose bestanden hatte.

Somit ergibt sich aus den Impfungen, daß die Bakterien sich in der Tat als etwas Differentes für die Tauben erwiesen haben; die Injektion wurde durchaus nicht reaktionslos ertragen, sondern gab zur Entstehung von Nekrosen Anlaß. Daß auch die Bacillenträger bereits stärker affiziert waren, als äußerlich zu erkennen war, zeigten die unten folgenden Agglutinationen. Deren Darlegung soll der abschließenden Betrachtung vorangehen.

IV. Teil.

Agglutinationen.

Um die Identifizierung der fraglichen Diphtheriebacillen noch weiter zu sichern, wurde schließlich die serologische Methodik hinzugezogen. Die Ektotoxine der Diphtheriebacillen und die Antitoxine der Immunsera sind schon in ausgedehntem Maße untersucht worden. Aber gerade auf die Bacillen selber, ihren leiblichen Eigenschaften gegenüber, hat die Serodiagnostik bisher auffallend wenig Anwendung gefunden. Allerdings lagen einerseits keine praktischen Bedürfnisse vor, da ja die Diagnose der Krankheit sowie die der Bacillen auf einfacheren Wegen möglich war, andererseits hatte die Agglutination gerade auf diesem Gebiete besonders bei den ersten Untersuchern nur recht unsichere Resultate ergeben. Eine historische Uebersicht sei vorausgeschickt:

Zuerst hat Nicolas (22) 1896—1900 im Heilserum Agglutinine gesucht und gefunden; jedoch wurden durch Pferdeserum von 12 Diphtheriestämmen nur 6 agglutiniert (und zwar nur bis 1:20), 6 nicht agglutiniert.

Landsteiner (12) konnte 1897 selbst durch 11malige Injektion von Diphtheriebacillen in Meerschweinchen keine Agglutinine erhalten.

Nicolle (23) erzielte 1898 weder mit Immunkaninchen- noch mit Pferdeheilserum Agglutination.

Bruno (2) erhielt 1898 bei der Untersuchung der agglutinierenden Kraft des Höchster Heilserums, sowie des Serums von 44 Diphtheriekranken und 12 gesunden Menschen absolut keine einheitlichen Resultate. Interesse verdient nur der Befund von ihm, daß das Serum eines Schwerkranken bis 1 : 400 agglutinierte.

Müller (20) untersuchte 1905 die agglutinierende Kraft eines längere Zeit kranken Huhnes gegenüber dem von ihm gefundenen Stäbchen; es war jedoch das mit dem Serum versetzte Röhrchen nicht von der spontan agglutinierenden Kontrolle zu unterscheiden.

Piorkowski (24) berichtete 1907 von Erfolgen mit der Agglutination: Das Serum eines mit Hühnerdiphtheriebacillen immunisierten Kaninchens agglutinierte angeblich menschliche Diphtheriebacillen, und umgekehrt wurde der Bacillenstamm des kranken Huhnes von Menschendiphtherieserum „beeinflußt"; doch infolge des Fehlens näherer Angaben lassen sich diese Bemerkungen nicht verwerten.

Mit mäßigem Erfolge stellte sich erst Lubowski (17) 1900 ein Immunserum her, indem er eine Ziege mit großen Mengen einer avirulenten, sonst typischen Diphtheriebacillenkultur präparierte. Dies Serum agglutinierte 23 virulente und 2 avirulente Diphtheriestämme, dagegen nicht 3 „typische Pseudodiphtheriebacillen"; freilich meist nur in den starken Konzentrationen 1 : 40 und 1 : 20, bei denen schon normales Ziegenserum manchmal wirkte.

Einen viel höheren Titer erzielte Schwoner (28) 1902, indem er ein Pferd mit 12 verschiedenen, anfangs abgetöteten, später lebenden Diphtheriestämmen immunisierte; dieses polyvalente Serum agglutinierte Diphtheriebacillen noch in der Verdünnung 1 : 5000 bis 1 : 10000, Pseudodiphtheriebacillen dagegen nur 1 : 5 bis 1 : 10; ein Pseudodiphtherieserum agglutinierte nur den homologen Stamm, und zwar bis 1 : 10000, weder andere Pseudodiphtherie- noch echte Diphtheriebacillen.

Demgegenüber erreichte Lippstein (13—14) mit monovalenten Immunseris nicht so einheitliche Resultate; er injizierte Kaninchen intraperitoneal ziemliche Mengen lebender virulenter Diphtheriebacillen zusammen mit Antitoxin, um nur gegen die Bacillenleiber gerichtete Antikörper zu erhalten. Von 5 Antiseris agglutinierten 3 nur ihre homologen Bacillenstämme (und zwar 1 : 1000), andere Stämme überhaupt nicht oder nur spurweise; die beiden anderen Sera agglutinierten jedes außer seinem homologen Stamme noch den anderen, und zwar 1 : 540, sowie einen dritten Stamm, diesen aber nur 1 : 60. Lipstein schließt daraus auf verschiedene „Partialrezeptoren" bei den einzelnen Diphtheriestämmen, während alle gewisse „Grundrezeptoren" gemeinsam hätten. Polyvalente Sera seien besonders gegen die Grundrezeptoren eingestellt.

Endlich hat 1912 Przewoski (25) die Agglutination zur Unterscheidung von Diphtherie und Pseudodiphtherie verwandt. Er immunisierte 3 Kaninchen intravenös mit anfangs abgetöteten, dann lebenden Leibern von 2 Diphtheriebacillen- und 1 Pseudodiphtheriekultur. Die auf echte Diphtheriebacillen eingestellten Sera agglutinierten beide Stämme bis 1 : 9600, den Pseudodiphtheriestamm nur bis 1 : 150; analog wirkte das Pseudodiphtherieserum auf seinen homologen Stamm sogar bis 19200, auf die echten Diphtheriebacillen nur bis 150 agglutinierend.

Es ergibt sich also aus den neueren, wenn auch noch nicht sehr zahlreichen Arbeiten, daß die Agglutination, zumal wenn sie positiv ausfällt, für die Identifizierung echter Diphtheriebacillen sehr brauchbar ist; und da sie ja dem biologischen inneren Wesen der Bakterien am spezifischsten nahe zu kommen ermöglicht, so könnte sie bei einer zweifelhaften Diagnose in der Tat den Ausschlag geben, zumal die anderen Kriterien der sogenannten Pseudodiphtheriebacillen recht fließende sind.

Zu den eigenen Versuchen auf diesem Gebiete seien zunächst einige Bemerkungen über die Präparierung der Tiere und die Technik der Reaktion vorausgeschickt:

Es wurde mit jedem der 5 in erster Linie untersuchten Bakterienstämme je 1 junges Kaninchen von 1000—1200 g präpariert. Die zu den Injektionen verwandten, 24 Stunden lang auf Loeffler-Serum gewachsenen Bakterienmengen (von 1 Oese angefangen bis zu 4 Loeffler-Röhrchen) wurden in 2—4 ccm 0,85-proz. NaCl Lösung aufgeschwemmt

und intraperitoneal injiziert. Die zu den ersten Injektionen verwandten Bakterien wurden vorher durch einstündiges Erhitzen auf 58—60° abgetötet, danach wurden die lebenden Bacillen eingespritzt, ohne daß jemals eine schwere Schädigung des Tieres beobachtet wurde. Um die Kaninchen nicht unnötig durch Einverleibung von Ektotoxinen zu schädigen, wurde es streng vermieden, Keime im Kondenswasser der Kulturröhrchen wachsen zu lassen. Stets wurde das Verhalten des Gewichtes kontrolliert und die nächste Injektion erst dann gemacht, wenn das Tier sich von dem Gewichtssturze, der nach den ersten Injektionen am größten zu sein pflegte, völlig erholt hatte, frühestens jedoch 5 Tage nach der vorigen Injektion. Diesem schonenden Vorgehen ist es zu verdanken, daß die Tiere sich während der Präparierung immer sehr wohl befanden und während der Zeit zum Teil sehr beträchtlich — bis 610 g — zunahmen!

Zwischendrein wurde zeitweilig ein kleinerer Aderlaß aus der Ohrvene gemacht und das langsame Ansteigen des Agglutinationstiters beobachtet. Auch zum Schluß, für die Hauptversuche, wurden höchstens 10 ccm Blut der Ohrvene möglichst steril entnommen und mit dem 9-fachen Volumen Kochsalzlösung im Eisschranke aufbewahrt, wo sich das Serum 2 Wochen lang gut hielt.

Es möge zunächst ein Auszug aus den Immunisierungsprotokollen folgen, in dem nur die Extreme der Gewichtsabnahmen zwischen den Injektionen verzeichnet sind. Wenn kein Gewichtssturz, sondern fortdauernd Zunahme erfolgte, sind die interkurrenten 2—3-tägigen Wägungen ganz fortgelassen.

Die Blutentnahmen zum Zwecke der Agglutinationen am 8. und 22. Sept. und 6. Okt. erfolgten vor den Injektionen am selben Tage.

Kaninchen T 1.

Datum	Gewicht	erhält intraperitoneal	Blut agglutiniert bis
16. Aug.	1225 g	1 Oese abgetötet	—
18. „	1065 „	—	—
27. „	1220 „	2 Oesen abgetötet	—
30. „	1180 „	—	—
3. Sept.	1210 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
5. „	1200 „	—	—
8. „	1250 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	1:120
16. „	1385 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
22. „	1420 „	1 Loeffler-Röhrchen lebend	1:320
27. „	1445 „	2 Loeffler-Röhrchen lebend	—
30. „	1420 „	—	—
6. Okt.	1460 „	2 Loeffler-Röhrchen lebend	1:1280
13. „	1485 „	1 kl. Loeffler-Platte lebend	—
18. „	1615 „	3 Loeffler-Röhrchen lebend	—
27. „	1630 „	—	1:2560

Kaninchen T 2.

15. Aug.	1080 g	1 Oese abgetötet	—
16. „	960 „	—	—
27. „	1060 „	2 Oesen abgetötet	—
30. „	1020 „	—	—
3. Sept.	1040 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
5. „	1010 „	—	—
8. „	1080 „	—	1:>80
30. „	1340 „	Bakterienwachstum zu schwach ca. 1 Oese abgetötet (aus 4 Röhrchen zusammengesucht	—
2. Okt.	1305 „	—	—

Kaninchen T 2.

Datum	Gewicht	erhält intraperitoneal	Blut agglutiniert bis
4. Okt.	1310 g	1 (schwaches) Tellurröhrchen abgetötet	—
9. „	1320 „	2 (schwache) Agarröhrchen leb.	—
11. „	1305 „	—	—
14. „	1375 „	2 Loeffler-Röhrchen und 1 Platte lebend	—
16. „	1360 „	—	—
18. „	1390 „	3 Loeffler-Röhrchen und 1 Platte lebend	—
24. „	1390 „	4 Loeffler-Röhrchen lebend	—
29. „	1425 „	3 Loeffler-Röhrchen lebend	—
3. Nov.	1400 „	—	1:2560

Kaninchen H 1.

30. Sept.	1180 g	1 Oese abgetötet	—
2. Okt.	1170 „	—	—
4. „	1190 „	2 Oesen abgetötet	—
9. „	1230 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
14. „	1300 „	1 Loeffler-Röhrchen lebend	—
18. „	1280 „	2 Loeffler-Röhrchen lebend	—
23. „	1320 „	3 Loeffler-Röhrchen lebend	—
28. „	1290 „	2 gr. Loeffler-Röhrchen leb.	—
3. Nov.	1320 „	—	knapp 1:640

Kaninchen M 1.

15. Aug.	1000 g	1 Oese abgetötet	—
18. „	885 „	—	—
27. „	1025 „	2 Oesen abgetötet	—
1. Sept.	1060 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
8. „	1135 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	1:240
16. „	1270 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
19. „	1225 „	—	—
22. „	1310 „	1 Loeffler-Röhrchen lebend	1:640
25. „	1300 „	—	—
27. „	1330 „	2 Loeffler-Röhrchen lebend	—
6. Okt.	1475 „	2 Loeffler-Röhrchen lebend	1:1280
13. „	1505 „	1 kl. Loeffler-Platte lebend	—
18. „	1610 „	3 Loeffler-Röhrchen lebend	—
27. „	1610 „	—	1:10 000

Kaninchen M 2.

15. Aug.	1100 g	1 Oese abgetötet	—
16. „	1010 „	—	—
27. „	1115 „	2 Oesen abgetötet	—
1. Sept.	1145 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
5. „	1065 „	—	—
8. „	1140 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	1:20
16. „	1290 „	1 Loeffler-Röhrchen abgetötet	—
19. „	1250 „	—	—
22. „	1300 „	1 Loeffler-Röhrchen lebend	1:320
27. „	1320 „	2 Loeffler-Röhrchen lebend	—
6. Okt.	1425 „	2 Loeffler-Röhrchen lebend	1:640
13. „	1470 „	1 kl. Loeffler-Platte lebend	—
18. „	1540 „	3 Loeffler-Röhrchen lebend	—
27. „	1525 „	—	knapp 1:1280

Zur Vornahme der Agglutinationen wurde das Serum in der gebräuchlichen Weise verdünnt und in Reagensröhrchen zu je $^1/_2$ ccm Serumverdünnung $^1/_2$ ccm Bakterienaufschwemmung hinzugefügt. Diese wurde derart hergestellt, daß eine ganze 24-stündige Loeffler-Röhrchen-

kultur mit 10—20 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung verrieben und abgeschwemmt und sodann 8—10 Minuten lang scharf zentrifugiert wurde. Die fast immer ganz gleichmäßig trübe Aufschwemmung brauchte nur vom Bodensatze abgegossen zu werden, um gebrauchsfertig zu sein. Nach der Beschickung der Röhrchen kamen diese auf 2 Stunden in den Brutschrank, wurden über Nacht außerhalb desselben ruhig stehen gelassen und am nächsten Vormittage abgelesen. Die entstandenen Flöckchen hatten sich dann am ganzen Boden und am unteren Teile der Wand des Glases abgelagert, während in der Kontrolle und in den negativen Röhrchen, sofern sie nicht überhaupt homogen geblieben waren, die feinen Bakterienmengen nur in der untersten Kuppe des Glases zu einem dichten, scharf begrenzten Häufchen zusammengesunken waren und ringsum meist nichts von Staub oder Flöckchen zu entdecken war. Dazu kam dann beim Umschütteln des Glases, daß der Bodensatz in der Kontrolle in Gestalt feinsten Sandes oder eines zusammenhängenden schleierigen Hauches aufwirbelte und sich zu einer diffusen Trübung verteilte, während in den mit + bezeichneten Röhrchen kleine Flöckchen emporsteigen und als solche erkennbar bleiben mußten. Mit (+) wurden die Röhrchen bezeichnet, in denen nach dem Aufschütteln die hauchige Trübung überwog, aber doch immerhin noch einige Flöckchen mit der Lupe erkannt werden konnten. Daß auch in der Kontrolle sich Flöckchen bildeten, kam sehr selten und dann nur in ganz geringem Grade vor, der mit ((+)) bezeichnet wurde.

Herr Geh.-Rat Prof. Dr. Pfeiffer hatte die Güte, sämtliche Agglutinationen persönlich zu begutachten; es war allerdings das Auge eines geübteren Beobachters für die Entscheidung häufig recht erwünscht.

Ueber die in den Tabellen mit M 10 und M 80 bezeichneten Bakterienstämme ist noch vorauszuschicken, daß es sich bei beiden um typische menschliche Diphtheriebacillen handelte.

Tabellen der Agglutinationen.

1. Agglutination von Diphtheriebacillen von Menschen und krankem Geflügel durch Kaninchensera.

Vorversuche.

Sera vom 8. Sept.

Serum	Bacillen	Agglutination bis 1 zu
M 1	M 1	240
M 2	M 2	20
T 1	T 1	120
T 2	T 2	>80 (nicht weiter angesetzt)

Sera vom 22. Sept.

Serum	Bacillen	Agglutination bis 1 zu
M 1	M 1	640
M 2	M 2	320
T 1	T 1	320

Sera vom 6. Okt.

Bacillen	Agglutination positiv mit Sera bis 1 zu		
	M 1	M 2	T 1
M 1	1280	320	(320)
M 2	320	640	320
M 10	1280	1280	1280
M 80	320	80	160
T 1	320	(320)	1280
T 2	40	40	40
H 1	40	40	40

Hauptversuche.

Sera M 1, M 2 und T 1 vom 27. Okt., Sera T 2 und H 1 vom 3. Nov.

Datum	Serum	Bacillen	Agglutination bei Verdünnung 1 zu									Kontrolle
			20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	
27. Okt.	**M 1**	M 1	.	+	+	+	+	+	(+)	?	—	—[1]
29. „		M 1	.	.	+	+	+	+	+	+	+	—
6. Nov.		M 1	.	.	.	.	.	.	.	+	+	—[2]
28. Okt.		M 2	.	+	+	+	+	+	+	(+)	.	((+))
29. „		M 10	.	+	+	+	+	+	+	+	.	—
30. „		M 80	.	+	+	+	+	+	+	—	—	—
27. „		T 1	.	+	+	+	+	+	+	+	—	—
28. „		T 2	.	+	+	+	+	(+)	—	—	.	—
29. „		H 1	+	+	—	—	—	—	—	.	.	—
27. Okt.	**M 2**	M 1	.	+	+	+	+	+	(+)	?	—	—[1]
29. „		M 1	.	+	+	+	—?	—?	—?	—	.	—
4. Nov.		M 1	.	+	+	+	+	+	(+)	—	.	—
28. Okt.		M 2	.	+	+	+	+	+	(+)	((+))	.	((+))
29. „		M 10	.	+	+	+	+	+	+	—	.	—
30. „		M 80	.	+	+	+	(+)	—	—	—	—	—
27. „		T 1	.	+	+	+	+	+	+	+	—	—
28. „		T 2	.	+	+	+	+	+	+	—	.	—
29. „		H 1	+	+	—	—	—	—	—	.	.	—
27. Okt.	**T 1**	M 1	.	+	+	+	+	(+)	?	?	—	—[1]
29. „		M 1	+	+	+	—?	—?	—?	—	—	.	—
4. Nov.		M 1	.	+	+	+	+	(+)	—	—	.	—
28. Okt.		M 2	.	+	+	+	+	(+)	(+)	((+))	.	((+))
29. „		M 10	.	+	+	+	+	+	+	+	.	—
30. „		M 80	.	+	+	+	—	—	—	—	.	—
27. „		T 1	.	+	+	+	+	+	+	+	—	—
28. „		T 2	.	+	+	+	+	(+)	—	—	.	—
29. „		H 1	+	+	—	—	—	—	—	.	.	—
4. Nov.	**T 2**	M 1	.	+	+	+	+	+	+	—	.	—
4. „		M 2	.	+	+	+	+	(+)	—	—	.	—
5. „		M 10	.	+	+	+	+	+	+	—	.	—
5. „		M 80	.	+	+	—	—	—	—	—	.	—
3. „		T 1	+	+	+	+	+	+	+	.	.	—
3. „		T 2	+	+	+	+	+	+	+	.	.	—
5. „		T 2	.	.	.	.	.	+	+	+	((+))	((+))
3. „		H 1	+	+	+	—	—	—	—	.	.	—
4. Nov.	**H 1**	M 1	+	+	+	(+)	—	—	—	.	.	—
4. „		M 2	+	+	—	—	—	—	—	.	.	—
5. „		M 10	+	+	+	(+)	—	—	—	.	.	—
5. „		M 80	+	—	—	—	—	—	—	.	.	—
3. „		T 1	+	+	+	—	—	—	—	.	.	—
3. „		T 2	+	+	+	—	—	—	—	.	.	—
3. „		H 1	.	+	+	+	+	(+)	—	.	.	—
29. Okt.	Normal-	M 1	+	+	—	.	.	.	.	.	.	—
28. „	kaninchen	M 2	+	((+))	((+))	.	.	.	.	.	.	((+))
29. „		M 10	+	+	—	.	.	.	.	.	.	—
30. „		M 80	+	(+)	—	.	.	.	.	.	.	—
27. „		T 1	+	(+)	—	.	.	.	.	.	.	—
28. „		T 2	+	—	.	.	.	.	.	.	.	—
29. „		H 1	+	—	.	.	.	.	.	.	.	—

1) Zu schwache Emulsion.
2) 1 : 10 000 +; 1 : 20 000 —.

Ergebnisse der 1. Agglutinationsreihe.

a) Was zunächst den homologen Agglutinationstiter anlangt, so bleibt dessen absoluter Wert bei M 1 (1 : 10000) nicht hinter den Resultaten der anderen Autoren (Schwoner und Przewoski) zurück, trotzdem nicht einmal der intravenöse Infektionsmodus gewählt worden war. Auch bei T 1, T 2 und M 2 besitzt er die befriedigende Höhe von 2560 bzw. 1280. Weniger gut ist der Wert des Serums H 1 von knapp 640, wahrscheinlich infolge der schnelleren und geringeren Präparierung dieses Tieres, das in $4^1/_2$ Wochen 7 Injektionen, die anderen in über 11 Wochen 10 Injektionen erhalten hatten. Freilich wiesen M 1 und T 1 nach 7 Injektionen bereits einen Titer von 1280 auf. Also ist wohl auch entweder die Antigenkraft des H 1-Stammes oder die Antikörperproduktivität des Kaninchens H 1 eine geringere; es ist ja offensichtlich, wie wenig das Kaninchen H 1 auf die Injektionen reagiert hatte: Bei T 1 nach der ersten Oese ein jäher Gewichtssturz von 160 g, bei H 1 ein Verlust von 10 g. Und auf die späteren Injektionen antwortete das Kaninchen H 1 höchstens mit Gewichtsstillstand, meist obendrein mit Zunahme.

b) Nichtsdestoweniger geht die geringe Verwandtschaft des H 1-Stammes mit den anderen untersuchten Diphtheriebacillen deutlich genug aus den Versuchen hervor; Das Serum H 1 agglutinierte alle anderen Stämme höchstens bis knapp 160, und die Bacillen H 1 werden von den hochwertigen Seris fast durchweg nur bis 1 : 40 agglutiniert, ein Wert, der innerhalb des Titers des Normalkaninchenserums bleibt.

c) Demgegenüber stehen T 1, T 2 und die menschlichen Diphtheriebacillen als eine zusammengehörige Gruppe da. Zunächst ist die hohe Mitagglutination, die M 10 und M 80 durch die auf andere Menschenbacillen eingestellten Sera erfahren, bemerkenswert gegenüber den schlechten Ergebnissen Lipsteins in dieser Frage; die obigen Versuche treten durchaus für die Brauchbarkeit der serologischen Methode zur Agnoszierung verwandter Diphtheriebacillen ein. Ja es findet sich sogar die eigentümliche Tatsache, daß das Serum M 2 die Bacillen M 10 stärker agglutiniert als seinen homologen Stamm. Da das gleiche schon bei dem Serum vom 6. Okt. der Fall gewesen war, handelt es sich offenbar um nichts Zufälliges.

d) Daß zu der Gruppe der 4 Menschendiphtheriestämme auch T 1 und T 2 zu rechnen sind, geht klar hervor aus den wechselseitigen Agglutinationen der betreffenden Sera und Bakterien, die sämtlich den Wert von 640 erreichen und oft übersteigen. Daß die Bacillen T 2 durch die Sera vom 6. Okt. noch so schwach agglutiniert wurden, ist wohl durch die Entartung dieses Stammes zu erklären, der damals eben erst wieder anfing sich zu erholen. Sonst zeigt die Tabelle der Agglutinationen vom 6. Okt. einen sehr guten Parallelismus mit den Werten der Sera vom 27. Okt.

e) Bei den Agglutinationswerten des Normalkaninchenserums ist bemerkenswert, daß diese oft die relativ beträchtliche Höhe von 1 : 40 erreichten.

2. Agglutination von Diphtheriebacillen gesunder Tauben durch Kaninchensera M 1 und T 1.

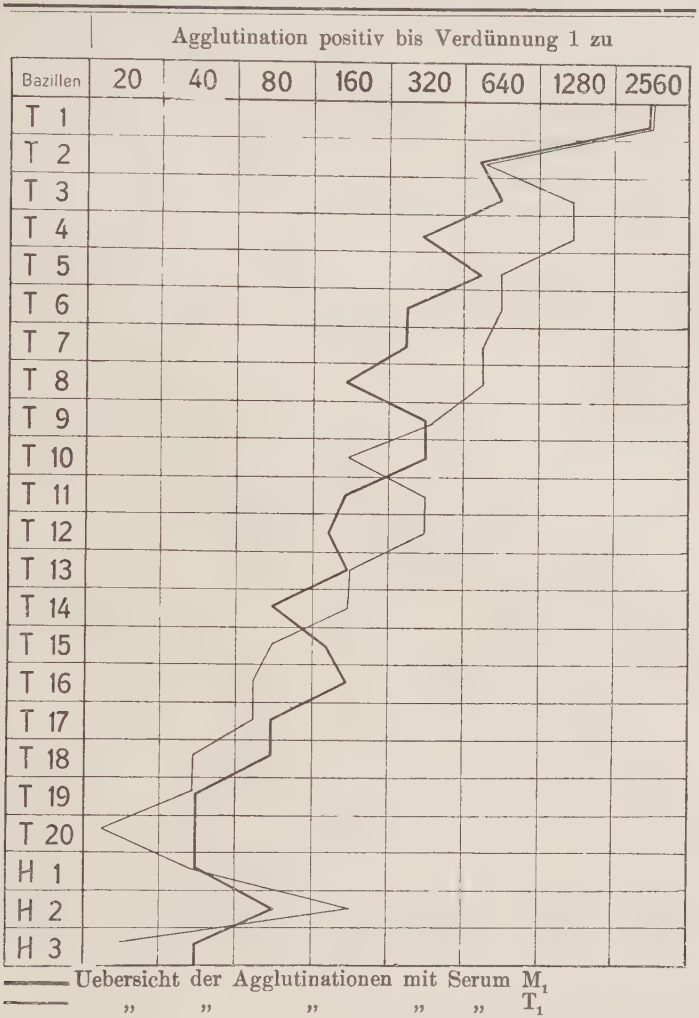
Datum	Serum	Bacillen	Agglutination bei Verdünnung 1 zu								Kontrolle
			20	40	80	160	320	640	1280	2560	
27. Okt.	M 1	T 1	.	+	+	+	+	+	+	+	—
28. „		„ 2	.	+	+	+	+	(+)	—	—	—
30. „		„ 3	+	+	+	+	+	+	—	.	—
30. „		„ 4	+	+	+	+	+	—	—	.	—
31. „		„ 5	+	+	+	+	+	(+)	—	.	—
5. Nov.		„ 6	+	+	+	+	(+)	—	—	.	—
4. „		„ 7	+	+	+	+	(+)	—	—	.	—
1. „		„ 8	+	+	+	+	—	—	—	.	—
1. „		„ 9	+	+	+	+	+	—	—	.	—
31. Okt.		„ 10	+	+	+	+	+	—	—	.	—
31. „		„ 11	+	+	+	+	—	—	—	.	—
31. „		„ 12	+	+	+	(+)	—	—	—	.	—
4. Nov.		„ 13	+	+	+	+	—	—	—	.	—
31. Okt.		„ 14	+	+	+	—	—	—	—	.	—
4. Nov.		„ 15	+	+	+	(+)	—	—	—	.	—
1. „		„ 16	+	+	+	+	—	—	—	.	—
5. „		„ 17	+	+	+	—	—	—	—	.	—
7. „		„ 18	+	+	(+)	—	—	—	—	.	—[1]
6. „		„ 18	+	+	+	—	—	—	—	.	—
5. „		„ 19	+	+	—	—	—	—	—	.	—
6. „		„ 20	+	+	—	—	—	—	—	.	—
29. Okt.		H 1	+	+	—	—	—	—	—	.	—
6. Nov.		„ 2	+	+	+	—	—	—	—	.	—
6. „		„ 3	+	+	—	—	—	—	—	.	—
27. Okt.	T 1	T 1	.	+	+	+	+	+	+	+	—
28. „		„ 2	.	+	+	+	+	(+)	—	—	—
30. „		„ 3	+	+	+	+	+	+	+	.	—
30. „		„ 4	+	+	+	+	+	+	+	.	—
31. „		„ 5	+	+	+	+	+	+	—	.	—
5. Nov.		„ 6	+	+	+	+	+	+	—	.	—
4. „		„ 7	+	+	+	+	+	(+)	—	.	—
1. „		„ 8	+	+	+	+	+	(+)	—	.	—
1. „		„ 9	+	+	+	+	+	—	—	.	—
31. Okt.		„ 10	+	+	+	+	—	—	—	.	—
31. „		„ 11	+	+	+	+	+	—	—	.	—
31. „		„ 12	+	+	+	+	+	—	—	.	—
4. Nov.		„ 13	+	+	+	+	—	—	—	.	—
31. Okt.		„ 14	+	+	+	+	—	—	—	.	—
4. Nov.		„ 15	+	+	+	—	—	—	—	.	—
1. „		„ 16	+	+	(+)	—	—	—	—	.	—
5. „		„ 17	+	+	(+)	—	—	—	—	.	—
1. „		„ 18	+	(+)	—	—	—	—	—	.	—[1]
6. „		„ 18	+	+	—	—	—	—	—	.	—
5. „		„ 19	+	+	—	—	—	—	—	.	—
6. „		„ 20	(+)	—	—	—	—	—	—	.	—
29. Okt.		H 1	+	+	—	—	—	—	—	.	—
6. Nov.		„ 2	+	+	+	+	—	—	—	.	—
6. „		„ 3	+	—	—	—	—	—	—	.	—

Schlüsse aus der 2. Gruppe der Agglutinationen.

a) Die stets parallel miteinander angesetzten beiden Sera hatten im allgemeinen eine ähnliche Wirkungsstärke auf denselben Bakterienstamm und differierten meist nur um einen Verdünnungsgrad. Welches von beiden Seris sich als das stärkere zeigte, war von Fall zu Fall ver-

1) Zu schwache Emulsion.

schieden; nur so viel ist wohl doch augenfällig, daß die höchsten Werte vorwiegend vom Serum T 1 erreicht wurden (2mal 1 : 1280 und 4mal 1 : 640), während das Serum M 1, obwohl sein homologer Titer noch 4mal so hoch lag, wie der von Serum T 1, nur 2mal bis 1 : 640 reichte. Dafür überwog die Wirkung des Serums M 1 die von T 1 in den mittleren und schwachen Verdünnungen. Daraus läßt sich herauslesen, daß



in dem hochwertigeren Serum M 1 die allgemeinen Gruppenrezeptoren auch stärker vertreten waren, währrend die speziellen Partialrezeptoren von M 1 den Tierbakterien doch etwas weniger adäquat waren. Das Serum T 1 andererseits konnte mit seinen schwächeren Gruppenrezeptoren die Mehrzahl der Tierstämme nicht so stark agglutinieren, fand aber dafür einige Bakterien, besonders T 3 und T 4, die seinen Partialrezeptoren mehr adäquat waren als denen des Serums M 1. Denn wenn auch die absolute Differenz in der Wirkung beider Sera z. B. auf Bacillen T 3 nicht sehr groß war, so wird sie doch beträcht-

licher, wenn man sich vergegenwärtigt, daß Serum T 1 diesen Stamm bis zur Hälfte seines homologen Titers (und vielleicht noch darüber hinaus) agglutinierte, Serum M 1 dagegen hier nur $^1/_{16}$ des homologen Wertes erreichte.

b) Was die Bakterienstämme anlangt, so zeigten sich in ihrer Agglutinierbarkeit alle Uebergänge von den besten Werten herab bis zu Zahlen, die innerhalb des Titers des Normalkaninchenserums lagen. Wohin die Grenze zwischen verwandten und nicht verwandten Stämmen zu legen ist, läßt sich schwer entscheiden. Die Stämme T 17, 18, 19, 20 und H 3 fielen ja unzweifelhaft, so wie H 1 ganz ab; doch auch die vorangehenden in der Reihe besaßen noch keine eindeutigen Agglutinationswerte. Freilich erreichten sie doch wenigstens mit einem Serum den Wert von 160, den die Sera M 2 und T 1 in ihrer Wirkung auf Bacillen M 80 kaum zu überschreiten vermochten und den man darum allenfalls als Grenze festsetzen könnte; jedoch fließend ist sie sicherlich. Auch die Verschiedenheit des kulturellen Wachstums der Bakterienstämme schwankten ja, und die danach versuchten Gruppeneinteilungen ergaben fast bei jedem Nährboden eine andere Formation; von diesen verlief keine der Skala der Agglutinationswerte parallel.

Die sogleich unten folgende Tabelle der letzten Agglutinationen lieferte noch eine Stütze dafür, daß Stämme, die in einem Punkte sich fern standen, in anderer Hinsicht nahe verwandt sein können.

3. Agglutinationen mit Taubenseris[1]).

Sera gesunder Bacillenträger.

Datum	Serum	Agglutination bei Verdünnung 1 zu								Kontrolle
		mit Bacillen	10	20	40	80	160	320	640	
7. Nov.	Taube 5	T 5	+	+	+	+	+	+	—	—
7. „	„ 5	„ 6	+	+	+	+	+	+	—	—
7. „	„ 5	„ 19	+	+	+	+	+	+	—	—
7. „	„ 6	„ 5	+	+	+	+	+	+	—	—
7. „	„ 6	„ 6	+	+	+	+	+	+	—	—
7. „	„ 6	„ 19	+	+	+	+	+	+	—	—

Sera injizierter Bacillenträger.

Datum	Serum	injiziert mit Bacillen	Agglutination bei Verdünnung 1 zu							Kontrolle
			mit Bacillen	10	20	40	80	160	320	640	
3. Nov.	Taube 3	T 3	T 3	+	+	+	+	+	—	—	—
4. „	„ 15	„ 15	„ 15	+	+	+	+	+	+	—	—
4. „	„ 10	M 1	M 1	+	+	+	+	(+)	—	—	—
9. „	„ 10	„ 1	T 10	+	+	+	+	+	(+)	((+))	((+))
9. „	„ 10	„ 1	„ 4	+	+	+	+	+	+	—	—
4. „	„ 13	„ 2	M 2	+	+	+	+	+	—	—	—
3. „	„ 4	T 1	T 1	+	+	+	+	+	+	—	—
9. „	„ 4	„ 1	„ 10	+	+	+	+	+	+	+	—
9. „	„ 4	„ 1	„ 4	+	+	+	+	+	+	+	—
3. „	„ 17	H 1	H 1	+	+	+	+	+	(+)	—	—

1) Da der Hals der Tauben beim Durchtrennen noch vom desinfizierenden Alkohol benetzt war, wurden die Sera ein wenig durch Hämolyse gefärbt.

(Vorerst soll nur noch kurz darauf hingewiesen werden, daß es allerdings auffällig ist, daß gerade den letzten Stämmen gegenüber die Agglutinationskraft der Sera vom 27. Okt. stark herabgesetzt war. Da jedoch Serum M 1 noch am 6. Nov. seinen höchsten Titer besaß und die Sera unverändert klar geblieben waren, sowie endlich in Anbetracht der Widerstandsfähigkeit aller Agglutinine ist ein Verderben der Sera während der kurzen Versuchszeit nicht anzunehmen.)

Folgerungen aus der 3. Serie von Agglutinationen:

a) Schon bei den gesunden Bacillenträgern zeigte sich ein nicht unbeträchtliches Agglutinin gegenüber ihren eigenen Bakterien, das den konstanten Betrag von 1:320 erreichte. Es folgt daraus, daß diese Diphtheriebacillen sich einmal für die Tauben als ziemlich different erwiesen und zur beträchtlichen Produktion von Antikörpern Anlaß gegeben haben.

b) Damit haben die Tauben aber einen gewissen Grad von Immunität erreicht und reagieren nicht mehr auf weitere Zufuhr desselben Antigens. Denn die einmalige Injektion der Bacillen aus dem Rachen in den Brustmuskel desselben Tieres vermochte keineswegs das Agglutinin über den obigen Durchschnittswert zu steigern, bei Taube 3 blieb es sogar trotzdem darunter.

c) Bei den 4 mit den anderen Stämmen injizierten Tauben 10, 13, 4 und 17 erfolgte freilich die Agglutinierung der injizierten Bakterien ganz gut; dies brauchte aber nicht eine Folge der Impfung zu sein, sondern beruhte augenscheinlich auf der Verwandtschaft der injizierten mit den im Rachen der Tauben vegetierenden Stämmen. Dafür spricht die Tatsache, daß das Serum der Tauben 10 und 14 die injizierten Bacillen nicht einmal so stark agglutinierte wie die Stämme T 10 und T 4.

d) Endlich ergibt sich noch eine Folgerung aus den letzten Agglutinationen: Zunächst wurde die Verwandtschaft der Stämme 5 und 6 sowie 4 und 10 je miteinander, die schon die Versuche mit den Kaninchenseris dargetan hatten, bestätigt und für die Bakterien T 10 in höherem Grade belegt. Darüber hinaus wurden noch neue verwandtschaftliche Beziehungen dieser Tierbacillen aufgedeckt: Die Bakterien T 19, die von den Kaninchenseris nicht spezifisch beeinflußt wurden, wurden von den Seris der Tauben 5 und 6 ebenso gut wie die homologen Stämme agglutiniert. Es besitzen also die von den gesunden Tauben stammenden Bacillen noch mehr gemeinschaftliche Partialrezeptoren, d. h. noch andere Verwandtschaftsbeziehungen, als die beiden Agglutinationsreihen mit den heterologen Kaninchenseris aufzudecken vermochten.

V. Teil.

Gesamtergebnisse.

1. Als Hauptresultat der obigen Ausführungen ergibt sich das Vorkommen zweifelloser Diphtheriebacillen beim Geflügel. Bei 2 diphtheriekranken und mehreren gesunden Tauben ließen sich Bacillen feststellen, deren engste Verwandtschaft bis zur Identität mit den Erregern der menschlichen Diphtherie bakteriologisch und serologisch dargelegt wurde. Daneben fanden sich bei anderen gesunden

Tauben und bei 3 Hühnern ähnliche Bakterien, die bei der serologischen Untersuchung mehr oder minder fremd erschienen. Angesichts der beiden Extreme der Agglutinationsreihen möchte man sich fast versucht fühlen, von einem Typus humanus und einem Typus avinus zu sprechen; zumal die 3 Hühnerbakterien standen weit von den menschlichen Diphtheriebacillen ab. Aber diese Gegensätze waren doch keinesfalls scharf geschieden. Denn schließlich ließen sich alle Bakterienstämme in eine kontinuierliche Reihe bringen, in der die benachbarten Glieder einander ganz nahe standen; auch zeigten sich bei anderen Agglutinationen neue Identitätsbeziehungen; endlich waren die kulturellen Unterschiede sehr gering und durchaus nicht übereinstimmend. Aus alledem erscheint der Schluß gerechtfertigt, daß auch die entfernteren Stämme den menschlichen Bacillen letzten Endes verwandt sind. Vielleicht verändern die Bacillengenerationen bei längerem Leben in den Tieren allmählich einige Eigenschaften, aber die Uebergangsformen zeugen noch von dem genetischen Bande, das sich etappenweise von einem Stamm zum anderen bis zu den fernsten Abkömmlingen der Familie schlingt.

Wenn sich wohl auch nicht alle der gefundenen Tierbakterien zu für den Menschen pathogenen Parasiten entwickeln können, so ist dies doch bei mehreren von ihnen auf Grund ihrer näheren Verwandtschaft mit den menschlichen Erregern wahrscheinlich. Dabei ist das anscheinend gar nicht so seltene Vorkommen der Diphtheriebacillen beim gesunden Geflügel für den Menschen vielleicht noch gefährlicher und wichtiger als ihr Auftreten bei kranken Vögeln.

Speziell in Hinblick auf die Sitte, sich von den Tauben Futter aus den Lippen picken zu lassen, muß nachdrücklich darauf hingewiesen werden, ein wie guter Nährboden augenscheinlich die Taubenschleimhaut für Diphtheriebacillen ist. Wenn nun solch eine Taube vielleicht erst vor kurzem von einem diphtheriekranken Menschen Bacillen erworben hat, so können diese in ihrem Rachen vorzüglich vegetieren und eine Zeitlang wohl neue Infektionen erzeugen; erst allmählich passen sie sich ihrem anderen Wirte an. Zumal auf dem Lande bei isolierten Gehöften u. dgl. könnte der Arzt demnach auch an diese Möglichkeit der Uebertragung denken.

2. Die pathogene Bedeutung der Diphtheriebacillen für das Geflügel selber ist durch mehrere Punkte gestützt:

Das ziemlich beträchtliche Agglutinin der zurzeit gesunden Bacillenträger zeugte von einer stärkeren Beeinflussung der Tiere durch die Mikroorganismen.

Die Impfung mit den Bacillen erwies ihre Fähigkeit, bei den Tauben Nekrosen zu erzeugen.

Drittens ist das Auftreten von Diphtheriebacillen zusammen mit schweren diphtherischen Krankheitserscheinungen sehr bemerkenswert und drängt dazu, beides in einen kausalen Zusammenhang zu bringen.

In welcher Art die Immunisierung der Bacillenträger früher erfolgt ist, läßt sich nicht mehr konstatieren. Vielleicht war es eine allmähliche, ohne akute Erscheinungen. Ebensogut ist es aber auch möglich, daß sämtliche affizierten Tauben in mehr oder minder früher Jugend eine Diphtherie mit stärkeren Krankheitsprozessen durchgemacht haben. Vielleicht nehmen diese bei den Tauben einen benigneren Verlauf. Doch ist diese Annahme gar nicht nötig; denn der Prozentsatz an Opfern, der bei den Menschen noch furchtbar genug ist, würde bei den Tieren nicht so sehr beachtet werden. Manche junge Taube geht vielleicht an unerkannter Diphtherie zugrunde. Und wenn bei vielen alten Tauben die Impfversuche mit Loeffler-Bacillen nichts ergeben, so kann es daran liegen, daß die betreffenden Tiere durch frühere Affektionen bereits immunisiert sind. (Jedenfalls sollte vor jedem Versuche bei Tauben mit Diphtheriebacillen ein Rachenabstrich von ihnen genommen werden.)

3. Endlich ist mit den obigen Versuchen noch ein Beweis für die gute und eindeutige Anwendbarkeit der Agglutinationsmethode auf Diphtheriebacillen erbracht. Wenn sich auch — im Gegensatz zu anderen Autoren — keine scharfe Grenze zwischen Agglutinierbarkeit und Nichtagglutinierbarkeit (d. h. keiner stärkeren Agglutination als mit normalem Serum) feststellen ließ, so gaben eben gerade die zahlenmäßigen Abstufungen in der Agglutination ein anschauliches Bild davon, wie nahe oder fern die verschiedenen Bakterienstämme einander standen, wenn der Schluß von der biologischen Gemeinschaft auf einen genetischen Zusammenhang erlaubt ist. So wie die Versuche, „Pseudodiphtheriebacillen“ durch morphologische, kulturelle oder toxische Eigentümlichkeiten von „echten“ Diphtheriebacillen prinzipiell zu sondern, zu keinem Resultate führten, so fiel schließlich auch die Möglichkeit einer serologischen Unterscheidung zweier Arten dahin. Wohl aber ließ die Agglutination die Nähe der Verwandtschaft in vielen Fällen bis zu einem gewissen Grade bestimmen.

Zum Schlusse möchte ich mir erlauben, Herrn Geh. Rat Dr. Pfeiffer für die Anregung zu dieser Arbeit und für die freundliche Beratung und häufige Unterweisung dabei meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) Babes, V., u. Puscariu, E., Untersuchungen über die Diphtherie der Tauben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1890. p. 376.)
2) Bruno, J., Ueber Diphtherieagglutination und Seradiagnostik. (Berl. klin. Wochenschrift. 1898. p. 1127.)
3) Emmerich, La diphthérie de l'homme et du pigeon et sa cause dans les habitations. (Rev. d'Hyg. T. 6. 1884. p. 851.)
4) Gallez (fils), Recherches expérimentales sur l'origine aviaire de la diphtérie. (La Semaine méd. 1896. p. 136.)
5) Galli-Valério, B., L'état actuel de la question sur l'identité de la diphthérie de l'homme et des oiseaux. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 22. 1897. p. 500.)
6) Guérin, C., La diphtérie aviaire. (Ann. de l'Instit. Pasteur. T. 15. 1901. p. 941.)
7) — Sur la non-identité de la diphtérie humaine et de la diphtérie aviaire. (Rec. de méd. vétér. 1903. p. 20.)

8) Harrison, F. C., Non identity of human and aviaire diphtheria. (Dominion Med. Monthly, Toronto. March 1903; zit. nach Baumgartens Jahresber. 1903; nach Streit (31) u. Hausser (9).)
9) Hausser, A., Bakteriologische Untersuchungen über Geflügeldiphtherie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909. p. 535.)
10) Kampmann, Hirschbruch u. Lange, Massenerkrankung bei Enten usw. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. p. 214.)
11) v. Krajewski, A., Ueber Diphtherie des Hausgeflügels. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 13. 1888. p. 311.)
12) Landsteiner, K., Ueber die Folgen der Einverleibung sterilisierter Bakterienkulturen. (Wien. klin. Wochenschr. 1897. p. 439.)
13) Lipstein, A., Ueber Immunisierung mit Diphtheriebacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1902. p. 821.)
14) — Idem. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 34. 1903. p. 421.)
15) Loeffler, F., Untersuchungen über die Diphtherie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe. (Mitt. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 2. 1884. p. 421.)
16) Loir, A., et Ducloux, E., Contribution à l'étude de la diphtérie aviaire en Tunisie. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 8. 1894. p. 599.)
17) Lubowski, R., Ueber die Agglutination der Diphtheriebacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900. p. 87.)
18) Macfadyen, A., and Hewlett, R., Diphtheria-like organism found in pigeon-canker. (The Lancet. 1899. Vol. 2. p. 1296.)
19) Maxutow, Wratsch. 1902. No. 12; zit. nach Baumgartens Jahresber. 1902. p. 237.
20) Müller, R., Zur Aetiologie der Geflügeldiphtherie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906. p. 423.)
21) Neisser u. Gins, Diphtherie. (Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. Bd. 5. 1913. p. 982.)
22) Nicolas, J., Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1896, 1897, 1898, 1900.
23) Nicolle, Ch., Recherches sur la substance agglutinée. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 12. 1898. p. 161.)
24) Piorkowski, Beitrag zur Frage der Identität der Vogeldiphtherie und der Menschendiphtherie. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1907. p. 212.)
25) v. Przewoski, W., Beitrag zur Kenntnis der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912. p. 5.)
26) Rappin et Vanney, A., Sur l'identité des diphtéries aviaires et humaines. (Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. 70. 1911. p. 162.)
27) Ritter, J., Tierdiphtherie und ansteckende Halsbräune. (Allgem. med. Centralzeitung. 1895. p. 985.)
28) Schwoner, J., Ueber Differenzierung der Diphtheriebacillen von den Pseudodiphtheriebacillen durch Agglutination. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. p. 1274.)
29) Sharp, G., Contagious catarrh or roup in fowls and diphtheria in man. (The Lancet. Vol. 2. 1900. p. 18.)
30) Springer, Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels des Bacillus diphtheriae. (Arch. f. Hyg. Bd. 79. 1913. p. 25.)
31) Streit, Untersuchungen über die Geflügeldiphtherie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 46. 1904. p. 407.)

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Lebenslauf.

Ich, Rudolf Spiegelberg, bin geboren am 25. Dezember 1890 zu Berlin als Sohn des Kaufmanns Rudolph Spiegelberg. Ich besuchte zu Berlin zunächst das Kgl. Friedrich-Wilhelms-Gymnasium, dann das Friedrichs-Werdersche Gymnasium, das ich März 1909 mit dem Zeugnis der Reife verließ.

Ich studierte Medizin — anfangs auch Philosophie — zu Jena, Leipzig, Berlin, Heidelberg (2 Sem.), wo ich Juni 1911 die ärztliche Vorprüfung bestand, und besuchte sodann die Kliniken zu Berlin (3 Sem.) und Rostock (2 Sem.). Hier beendete ich am 23. Mai 1914 das Staatsexamen und legte am 26. Mai 1914 die zur Erlangung der Doktorwürde erforderliche mündliche Prüfung ab.

Seit dem 1. Juni 1914 war ich als Medizinalpraktikant am Stadtkrankenhause zu Meißen tätig. Hier erhielt ich sodann die Assistentenstelle, nachdem mir am 10. August 1914 die Approbation als Arzt zuteil geworden war.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.